

POSTNATALE ENTWICKLUNG
DES PURINENDSTOFFWECHSELS
BEIM SCHWEIN

Gabi Heiß

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. D. Giesecke

POSTNATALE ENTWICKLUNG DES
PURINENDSTOFFWECHSELS

BEIM SCHWEIN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Gabi Heiß
aus
Bad Wiessee

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. D. Giesecke

Korreferent: Prof. Dr. W. Kraft

Tag der Promotion: 27. Februar 1987

Diese Arbeit wurde aus Mitteln
der Deutschen Forschungsgemein-
schaft (DFG) unterstützt.

INHALTSVERZEICHNIS

	SEITE
1. EINLEITUNG	1
1.1 DAS SCHWEIN ALS MODELL FÜR DEN MENSCHEN	1
1.2. PURINSTOFFWECHSEL	2
1.3. GICHT	7
1.4. NIERENGICHT DER SAUGFERKEL	9
1.5. PROBLEMSTELLUNG	12
2. MATERIAL UND METHODEN	14
2.1. VERSUCHSAUFBAU	14
2.2. VERSUCHSTIERE	14
2.3. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	15
2.3.1. Erste Versuchsreihe	15
2.3.1.1. Probengewinnung	15
2.3.1.2. Bestimmung der Uricase-Aktivität	15
2.3.1.3. Bestimmung der Xanthin-Oxidase-Aktivität	16
2.3.2. Zweite Versuchsreihe	17
2.3.2.1. Unmarkierte Versuche in vivo	17
2.3.2.2. Radioisotopen-Verdünnungsversuche	18
2.4. ANALYTISCHE METHODEN	19
2.4.1. Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)	19
2.4.1.1. Homogenatproben zur Bestimmung der Uricase- und Xanthin-Oxidase-Aktivität	21
2.4.1.2. Plasmaproben	22
2.4.1.3. Harnproben	22
2.4.2. Glucosebestimmung	23
2.4.3. Radioaktivitätsmessungen	23

2.5.	BERECHNUNGEN	23
2.5.1.	Berechnung der kinetischen Größen der Enzyme Uricase und Xanthin-Oxidase	23
2.5.2.	Berechnungen zu den Radioisotopen-Verdünnungsversuchen	25
2.6.	STATISTIK	27
3.	ERGEBNISSE	28
3.1.	URICASE-AKTIVITÄT	28
3.1.1.	Enzymatischer Harnsäureabbau im Leberhomogenat	28
3.1.2.	Konzentrationsabhängigkeit der Uricase-Aktivität	34
3.1.3.	Charakterisierung der Uricase-Aktivität	38
3.2.	XANTHIN-OXIDASE-AKTIVITÄT	41
3.2.1.	Enzymatischer Xanthinabbau im Leberhomogenat	41
3.2.2.	Konzentrationsabhängigkeit der Xanthin-Oxidase-Aktivität	49
3.2.3.	Charakterisierung der Xanthin-Oxidase-Aktivität	49
3.3.	ENDPRODUKTE DES PURINSTOFFWECHSELS IM PLASMA	53
3.4.	ENDPRODUKTE DES PURINSTOFFWECHSELS IM HARN	53
3.5.	EINFLUSS VON HYPOTHERMIE UND PHLORICINBEHANDLUNG AUF DIE KONZENTRATIONEN VON PURINMETABOLITEN UND GLUCOSE IM PLASMA	59
3.6.	STOFFWECHSELKINETIK VON HYPOXANTHIN UND HARN- SÄURE BEI HYPOTHERMIE	64

4.	DISKUSSION	73
5.	ZUSAMMENFASSUNG SUMMARY	82
6.	LITERATURVERZEICHNIS	86



1. EINLEITUNG

1.1. DAS SCHWEIN ALS MODELL FÜR DEN MENSCHEN

Das Schwein dient in der Forschung oft als Modell für den Menschen. Dies gründet zum Teil auf der Tatsache, daß das Schwein, ebenso wie der Mensch, zu den Omnivoren, also Allesfressern, zählt. Jedoch wurde inzwischen auf Grund zahlreicher Untersuchungen festgestellt, daß erhebliche Unterschiede in der Ernährungsweise, den Stoffwechselabläufen, den Enzymmustern und der Anatomie des Verdauungsapparates bestehen (GIESECKE, 1985a). Im Purinstoffwechsel dagegen gibt es, abgesehen vom Vorhanden- bzw. Nichtvorhandensein der Uricase und der dadurch sehr unterschiedlichen Harnsäurerekonzentration im Plasma, große Übereinstimmungen (z.B. die Verteilung der Enzyme Xanthin-Oxidase und Guanase; SIMMONDS et al., 1973a). Und auch Funktion und Struktur der Niere weisen entscheidende Gemeinsamkeiten auf (CAMERON et al., 1974; SIMMONDS et al., 1974), obwohl der tubuläre Urattransport beim Schwein auf die Sekretion beschränkt ist (HATFIELD et al., 1976), der Mensch jedoch auch die Fähigkeit zur Rückresorption besitzt (ZÖLLNER, 1976). Ebenso entsprechen sich, bezogen auf das Körpergewicht, die Ausscheidungsmengen der Purinabbauprodukte im Harn (SIMMONDS et al., 1973a). Nur die Leber des Schweines ist in Bezug auf seine Rolle im Purinstoffwechsel noch nicht ausreichend untersucht. Will man das Schwein als Modell für den Purinstoffwechsel des Menschen verwenden (wie es auch beim Glucosestoffwechsel geschieht; FLECKNELL et al., 1981), so ist es erforderlich, genauere Erkenntnisse über den Purinstoffwechsel der Schweineleber zu erhalten.

1.2. PURINSTOFFWECHSEL

Purine nehmen eine zentrale Stellung im Stoffwechsel jeder Zelle ein. Sie bestehen aus einem heterozyklischen Fünf- und Sechsring mit verschiedenen Liganden. Sie stellen einen Hauptbestandteil der Desoxyribonucleinsäure (DNA) und der Ribonucleinsäuren (m-RNA, t-RNA, r-RNA) dar, wirken als Energieträger am Energiestoffwechsel mit und beteiligen sich als Cofaktoren an enzymatischen Reaktionen.

Fast jede Körperzelle ist fähig, diese Purinnucleotide aus 5-Phosphoribosyl-1-Pyrophosphat (PRPP) und anderen Vorstufen aus dem Aminosäurenstoffwechsel de novo zu synthetisieren. Dieses PRPP wird aus Ribose-5-Phosphat gebildet, das aus dem Pentosephosphatzyklus stammt (BUDECKE, 1980). Die Neusynthese der Purine wird durch den ersten Schritt, die Bildung von Phosphoribosylamin aus PRPP und Glutamin, reguliert, wobei PRPP die Synthese anregt, die Mononucleotide Adenosinmonophosphat (AMP), Guanosinmonophosphat (GMP) und Inosinmonophosphat (IMP) eine negative feed-back Wirkung besitzen (MERTZ, 1975; ZÖLLNER, 1976). Den Leukozyten, Erythrozyten und Knochenmarkszellen fehlt die Enzymausstattung zur Synthese de novo und sie sind auf die Aufnahme von Purinen angewiesen (LAJTHA, 1958; FONTENELLE & HENDERSON, 1969; GRIEBSCH & KAISER, 1976). MURRAY (1971) postulierte dies auch für die Gehirnzellen, wogegen HARKNESS et al. (1983) feststellten, daß die Gehirnzellen zwar zur Neusynthese fähig sind, diese aber aus Gründen der Energieersparnis (für die Synthese de novo der Purine bis zu den Mononucleotiden werden 6 ATP benötigt) unterbleibt und durch eine Purinaufnahme bzw. Reutilisierung (s.u.) ersetzt wird.

Purine in der Nahrung werden beim Menschen zu ca. 50 % resorbiert (ZÖLLNER, 1982). Sie werden jedoch zum Großteil schon in den Mucosazellen durch die vorhandenen Enzyme bis zur Harnsäure abgebaut und in dieser Form aufgenommen. Ein

Einbau der exogenen Purine in die Körperrnucleinsäuren bzw. eine Beeinflussung der endogenen Synthese findet deshalb nicht statt (GRÖBNER & ZÖLLNER, 1977). Doch steigt der Harnsäurespiegel im Blut und damit auch die Harnsäureausscheidung durch die Niere an (ZÖLLNER, 1982; CLIFFORD et al., 1976). SAVAIANO et al. (1980) fanden bei ihren Untersuchungen an der Ratte eine Resorption von Adenin und einen Einbau in die Körperrnucleinsäuren, besonders im Hunger, von bis zu 15 %. Und laut D'MELLO (1982) wird bei der Maus auch Guanin zu 8 % endogen verwertet. Beim Schwein liegt laut SIMMONDS et al. (1973b) die Inkorporation von exogenem Guanin bei unter 1 %. Diese Anteile sind so gering, daß eine exogene Purinzufuhr auf jeden Fall zu einer Erhöhung der Harnsäurekonzentration im Plasma führt.

Der Abbau der Nucleinsäuren und Nucleotide (Abb.1) verläuft unter Abspaltung der Phosphatgruppe über die Nucleoside Guanosin, Adenosin und Inosin zu den Basen Guanin und Hypoxanthin, und weiter über Xanthin und Harnsäure zu Allantoin. Die Schritte Hypoxanthin - Xanthin und Xanthin - Harnsäure werden von dem Enzym Xanthin-Oxidase (E.C.1.2.3.2), die Umwandlung Harnsäure zu Allantoin von der Uricase (E.C.1.7.3.3) katalysiert.

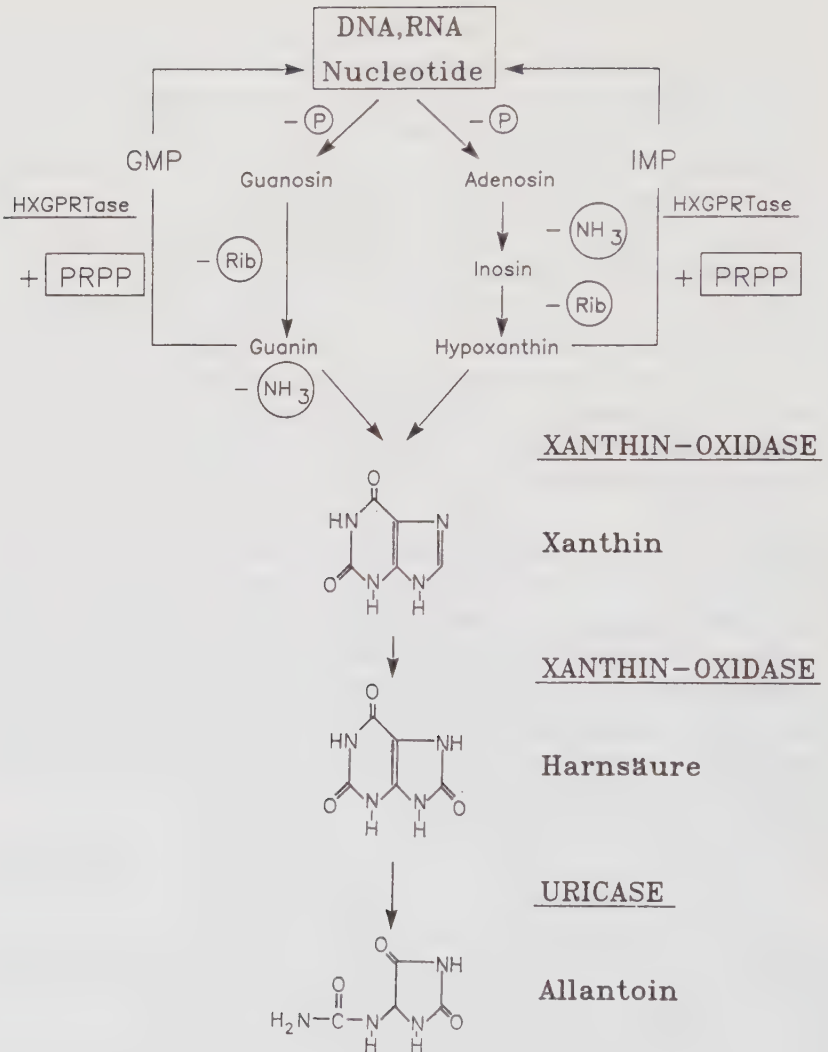


Abbildung 1: Abbauschema der Nucleinsäuren und Nucleotide bei den Säugetieren

Die Xanthin-Oxidase ist ein Flavoprotein mit FAD als prosthetische Gruppe und geringen Mengen Eisen und Molybdän (KELLEY & WEINER, 1978). Ihr Molekulargewicht liegt bei 74.000 (BALL, 1939). Sie liegt frei im Cytosol (NOGUCHI et al., 1979; TOLBERT, 1981) und ist hauptsächlich in Leber und Dünndarmmucosa zu finden, in geringer Konzentration aber auch in vielen anderen Organen und Geweben (KRENITZKY et al., 1974; HASHIMOTO, 1974). Keine Xanthin-Oxidase ist laut ZÖLLNER (1976) in Erythrozyten, Leukozyten, Kornea und Fibroblasten nachzuweisen. BRUDER et al. (1983) jedoch fanden sie auch dort in geringer bis geringster Konzentration und kamen zu dem Ergebnis, daß die Augenlinse das einzige Gewebe ohne nachweisbare Xanthin-Oxidase ist.

Die Uricase dagegen ist beim Schwein auf die Leber beschränkt. Die Annahme von TRUSZKOWSKI & GOLDMANOWNA (1933), daß auch die Niere dieses Enzym enthielte, konnte von FENN (1985) widerlegt werden. Im Gegensatz zur Xanthin-Oxidase liegt die Uricase nicht frei im Cytosol, sondern innerhalb der Peroxisomen, früher auch Microbodies genannt, und zwar verbunden mit dem kristallinen Zentrum, dem sogenannten Core (BAUDHUIN et al., 1965; HRUBAN & SWIFT, 1964; PITTS & PRIEST, 1974). Dabei behaupten AFZELIUS (1965), LATA et al. (1977) und ANTONENKOV & PANCHENKO (1978), daß die Uricase mit dem Core gleichzusetzen ist, was von DE DUVE & BAUDHUIN (1966) und HAYASHI et al. (1976) bestritten wird. Die Uricase hat ein Molekulargewicht von 125.000 und besteht aus 4 Untereinheiten zu je MG 32.000. Jedes Molekül enthält ein Atom Kupfer, das das aktive Zentrum darstellt (PITTS et al., 1974; MASTERS & HOLMES, 1977). Die oxidative Umsetzung der Harnsäure zu Allantoin vollzieht sich in zwei Schritten, wobei nur der erste Teil, die Bildung eines nicht genauer definierten Zwischenproduktes, von der Uricase katalysiert wird, indem sie zwei Elektronen von Harnsäure auf molekularen Sauerstoff überträgt, die Umwandlung dieses Zwischenproduktes zu Allantoin aber spontan verläuft (PRAETORIUS, 1948;

PITTS & PRIEST,1973; OHE & WATANABE,1981).

Die beim Nucleinsäure- und Nucleotidabbau anfallenden Basen Guanin und Hypoxanthin werden aber nicht vollständig weiter abgebaut. Der weitaus größte Teil (bei Hypoxanthin 95 % ; HO et al.,1979) wird im sogenannten salvage pathway durch das Enzym Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyl-Transferase (HXGPRtase, E.C.2.4.2.8) reutilisiert, d.h. unter Verbrauch von PRPP wieder zu den Mononucleotiden IMP und GMP synthetisiert (Abb.1;BUDECKE,1980). Diese Wiederverwertung spart im Vergleich zur Neusynthese 5 ATP ein (GRIEBSCH & KAISER, 1976; ZÖLLNER,1976) und dient außerdem zur Versorgung der Zellen, die nicht zur Neusynthese fähig sind (MURRAY,1971).

Der Abbau der Purine endet bei den meisten Säugetieren beim gut löslichen Allantoin, das problemlos über die Niere ausgeschieden wird. Diese Behauptung basiert auf der Untersuchung von nur 30 Säugetierspezies und wurde daraufhin verallgemeinert (KEILIN,1959). Niedere Tiere (Fische, Amphibien, Krebse) können Allantoin noch weiter abbauen (zu Allantoinsäure, Harnstoff bzw. Ammoniak und Kohlendioxid). Bei höheren Lebewesen (Menschen,Primaten), Landreptilien und Vögeln endet der Abbau, bedingt durch den Verlust der Uricase, schon bei der wesentlich schlechter löslichen Harnsäure (wobei aber die Harnsäure bei den Vögeln und Reptilien auch aus dem Proteinstoffwechsel stammt). Eine weitere Reduzierung des Abbauweges findet sich bei Blutegelein und Frischwassermuscheln, die Hypoxanthin ausscheiden, und bei Spinnen, die Guanin ausscheiden (KEILIN,1959).

Der Verlust der Uricase wurde von OROWAN (1955) als Grundlage des evolutionären Fortschrittes bezeichnet. Er führte die Entwicklung der menschlichen Intelligenz auf den Anstieg der Harnsäure im Blut und deren stimulierende Wirkung auf das Nervensystem zurück. Diese Anschauung wurde aber von KEILIN (1959) experimentell widerlegt, der bei Rat-

ten durch Harnsäure zwar die Reflexantworten, nicht jedoch die Lernfähigkeit steigern konnte. Er bezeichnete den Verlust der Uricase eher als evolutionären Unfall. Und auch ZÖLLNER (1982) schreibt diesem Verlust die Verantwortung für alle Arten von Gicht zu.

1.3. GICHT

Die Gicht gilt als eine der weit verbreitetsten und häufigsten Zivilisations- und Wohlstandskrankheiten der Menschen. Als Gicht bezeichnet man ein Ansteigen der Harnsäurekonzentration im Plasma über das Löslichkeitsprodukt hinaus und Auskristallisationen in Gelenken oder Organen (Gelenks- bzw. Visceralgicht). Sie ist keine neuzeitliche Erscheinung, sondern wurde schon bei Griechen und Römern beschrieben (KEILIN, 1959). Doch sind gerade in den letzten 20 Jahren durch den steigenden Fleischverbrauch die durchschnittlichen Harnsäurespiegel um ca. 60 $\mu\text{mol/l}$ auf 360 $\mu\text{mol/l}$ beim Mann und 260 $\mu\text{mol/l}$ bei der Frau gestiegen (GRIEBSCH & ZÖLLNER, 1973). Harnsäurekonzentrationen, die über diesen Durchschnittswerten liegen, werden als Hyperuricämie bezeichnet. Das Löslichkeitsprodukt von Harnsäure bzw. Natriumurat, also die Form, in der die Harnsäure im Plasma hauptsächlich vorliegt, liegt bei 381 $\mu\text{mol/l}$ (ZÖLLNER, 1976). Da die Harnsäure aber bei 37°C zu 7-8 % an Plasmaproteine gebunden ist (GREGER et al., 1974), erhöht sich das Löslichkeitsprodukt auf 420 $\mu\text{mol/l}$.

Man unterscheidet zwischen primärer und sekundärer Hyperuricämie. Die Primäre ist Folge eines genetischen Defektes, bei dem entweder die Harnsäureproduktion krankhaft gesteigert ist, da sie nicht mehr auf die negative Rückkopplung durch IMP, AMP und GMP anspricht, meist jedoch die Harnsäureausscheidung in der Niere reduziert ist (ZÖLLNER, 1976). Eine

hohe exogene Purinzufuhr stellt dann lediglich den Auslöser, nicht jedoch die Ursache für die Gicht dar (GRIEBSCH & KAISER, 1976). Die sekundäre Hyperuricämie kann als Folge bzw. Begleiterscheinung von Stoffwechselstörungen, Blutkrankheiten (z.B. Leukämie), Vergiftungen (z.B. Blei) oder Medikamenten entstehen (ZÖLLNER, 1976). Die Hyperuricämie führt jedoch nur in 5-10 % der Fälle zu Gichterscheinungen, also zu Auskristallisationen der Harnsäure, besonders in den Gelenken (MERTZ, 1975).

Da auch die Vögel über keine Uricase verfügen und zusätzlich zum Purinabbau noch den gesamten Stickstoff aus dem Proteinstoffwechsel als Harnsäure ausscheiden, kommt es bei ihnen gelegentlich zu Gichterkrankungen mit Auskristallisationen der Harnsäure, nicht nur in Gelenken, sondern auch in der Niere und anderen Eingeweiden (DAHME & WEISS, 1983).

Bei Säugetieren tritt auf Grund der vorhandenen Uricase keine Gicht auf. Der Dalmatiner stellt aber eine Ausnahme in Bezug auf den Purinstoffwechsel dar. Im Gegensatz zu den anderen Säugetieren scheidet er nicht Allantoin als Hauptabbauprodukt des Purinstoffwechsels aus, sondern zu einem Großteil Harnsäure. Dies liegt nicht an einem Fehlen der Uricase, sondern an einem Harnsäuretransportdefekt an der Leberzellmembran (GIESECKE & TIEMEYER, 1984). Bei dieser Hunderasse steigt der Harnsäurespiegel aber dank der sehr effizienten Nierenausscheidung nicht im Plasma bis zur Auskristallisation an, sondern es kommt nur im Harn gelegentlich zum Ansteigen der Harnsäurekonzentration über das Löslichkeitsprodukt hinaus, da die Harnsäure im Harn auf Grund des niedrigeren pH undissoziiert vorliegt und daher noch schlechter löslich ist als im Plasma (KARLSON, 1980). Als Folge treten dann Uratsteine in Nierenbecken, Harnleiter und Harnblase auf (GIESECKE et al., 1985a).

Die 1866 von VIRCHOW beschriebene Guaningicht der Schweine, die durch ein angebliches Fehlen der Guanase (E.C.3.5.4.4) hervorgerufen wird und zu Guaninauskristallisationen führt, konnte inzwischen durch Nachweis dieses Enzyms widerlegt werden (SIMMONDS et al., 1973a; PARKER et al., 1973; FAREBROTHER et al., 1974); die Leber des Schweines, das Hauptorgan des Purinstoffwechsels, enthält jedoch keine Guanase (SIMMONDS et al., 1973b).

1.4. NIERENGICHT DER SAUGFERKEL

1920, 1942/43 und 1952 traten in USA in mehreren Schweineherden große Saugferkelverluste auf, die eine erhebliche wirtschaftliche Bedeutung erlangten (MADSON et al., 1944; LUKES, 1953). Die Ferkel, die bei der Geburt völlig normal erschienen, zeigten 1-2 Tage danach plötzlich Symptome wie Schwäche, Appetitlosigkeit, Quieken, Zittern, z.T. Durchfall und Krämpfe, fielen schließlich ins Koma und starben nach 4-7 Tagen. Das Krankheitsbild ähnelte der Baby Pig Disease (Hypoglykämie), jedoch war der Glucosespiegel im Blut nur in manchen Fällen deutlich erniedrigt. Es war immer ein Großteil des Wurfes betroffen, aber es konnte kein direkter Zusammenhang mit einer Infektion oder mit Toxinen nachgewiesen werden. Bei der Autopsie wurde neben Abmagerung und Dehydrierung ein orange-gelbes Präzipitat in Nierenpapillen, Nierenbecken, z.T. auch in Harnleiter und Harnblase gefunden. Dieses Präzipitat bestand aus Harnsäure- bzw. Uratkristallen, und der Nicht-Protein-Stickstoff-Gehalt (bes. der Harnsäurespiegel) des Blutes war deutlich erhöht. Der Tod trat meist auf Grund der Urämie ein.

In Europa wurde dieses Krankheitsbild nur selten diagnostiziert (WINDSOR,1977). Das mag einesteils daran liegen, daß nur wenige Ferkel überhaupt zur Sektion kommen, andernteils die feinen bis feinsten Harnsäureablagerungen in der Niere bei einer Routineuntersuchung leicht übersehen werden und die üblichen speziellen Untersuchungsmethoden der Niere die Harnsäure bei der Präparation herauslösen (DJURICKOVIC et al.,1973).

MADSON et al.(1944) gelang es, bei Ferkeln experimentell durch Hungern Harnsäureablagerungen in der Niere und eine dadurch bedingte Urämie zu erzeugen, was sie dazu veranlaßte, darin einen Hauptauslöser für dieses Krankheitsbild zu sehen. DJURICKOVIC et al.(1973) wiederum vermuteten einen Zusammenhang mit einer TGE-Virusinfektion (Transmissible-Gastro-Enteritis), die mit starkem Durchfall einhergeht. Und laut DAHME & WEISS (1983) liegt die Ursache in einem vermehrten Zerfall kernhaltiger fetaler Erythrozyten, der auch bei Säuglingen häufig zu Harnsäureablagerungen in der Niere führt (WELLS & CORPER,1909), und in einer erst langsam ansteigenden Uricase-Aktivität.

GRACE et al.(1951) simulierten diese Krankheit, indem sie bei Saugferkeln verschiedenen Alters beide Ureter abbanden und so eine Urämie erzeugten. Sie stellten dabei fest, daß sich bei Ferkeln unter 10 Tagen der Harnsäurespiegel im Blut erhöhte, bei älteren Ferkeln jedoch die Allantoinkonzentration. Dies läßt darauf schließen, daß bei jungen Saugferkeln unter 10 Tagen die Fähigkeit, Harnsäure abzubauen, geringer ist als bei älteren Tieren. Dadurch erklärt sich z.T. auch der wesentlich höhere Harnsäurespiegel im Plasma junger Ferkel von $32.1 \mu\text{mol/l}$ (GRACE et al.,1951) im Vergleich zu $3.0 \mu\text{mol/l}$ bei erwachsenen Schweinen (ROCH-RAMEL et al.,1980). Schon 1907 führten MENDEL & MITCHELL Untersuchungen zum Nachweis der Uricase in der Schweineleber durch. Im embryonalen Gewebe (3-4 Wochen ante natum) konnten

sie keine Uricase-Aktivität messen, im Gegensatz zu Geweben von Saugferkeln im Alter von 2 Monaten. Sie zogen daraus die Schlußfolgerung, daß die Uricase kurz vor oder erst nach der Geburt erscheinen müßte und mindestens 10 Tage für ihre Entwicklung benötigt.

Dies trifft nicht nur für die Uricase zu. Ferkel kommen generell mit einer metabolisch unreifen Leber zur Welt (MERSMANN et al., 1972; NEUNDORF & SEIDEL, 1977). Die oft lebensnotwendige Fähigkeit zur Gluconeogenese entwickelt sich erst in den ersten 2-5 Tagen post natum, denn die dafür verantwortlichen Enzyme Glucose-6-Phosphatase (E.C.3.1.3.9), Fructose-1,6-Diphosphatase (E.C.3.1.3.11) und Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (E.C.4.1.1.32) sind bei der Geburt noch nicht, oder nur in ganz geringer Konzentration vorhanden (HELMRATH & BIEBER, 1974; MERSMANN, 1971; 1974). Auch die Fettsäureoxidation braucht einige Tage, bis sie ihre volle Kapazität erreicht (CURTIS et al., 1970; NICHELMANN et al., 1975). Eine weitere Stoffwechselbesonderheit bei neugeborenen Ferkeln in den ersten Lebenstagen ist ihre Unfähigkeit zur Thermoregulation. Ferkel besitzen im Gegensatz zu anderen Säugetieren bei der Geburt kein braunes Fettgewebe und ihr Gesamtkörperfett beschränkt sich auf 1-2 %, wovon aber 50 % Strukturfett, also nicht mobilisierbar sind. Ihre auf das Körpergewicht bezogen relativ große Oberfläche und der Mangel an schützendem Fell erschweren zusätzlich die Thermokon-servierung (CURTIS et al., 1967; NICHELMANN et al., 1975; BÜNGER et al., 1973). Auch die Fettsäureoxidation zur Wärme-gewinnung steht, wie oben erwähnt, nur in ganz geringem Maße zur Verfügung. Daher liegt die kritische Temperatur bei neugeborenen Ferkeln bei dem hohen Wert von 35°C (CURTIS & ROGLER, 1970). Da die kritische Temperatur bei adulten Schweinen bei 16-18°C liegt, was im Vergleich zum Rind (8°C) immer noch einen relativ hohen Wert darstellt, sind die Ferkel oft im Stall einer viel zu niedrigen Temperatur aus-gesetzt.

1.5. PROBLEMSTELLUNG

Auf Grund der Tatsache, daß in der Niere junger Saugferkel tödliche Harnsäureinfarkte auftreten können, war es Ziel dieser Arbeit, Grundlagen über den Purinstoffwechsel der Schweine in den ersten Lebenstagen zu erarbeiten. Dabei sollte zuerst die Entwicklung der Leberenzyme Xanthin-Oxidase und Uricase in den ersten 4 Lebenswochen untersucht werden, um genauere Erkenntnisse zu erhalten, als bisher in der Literatur verfügbar waren. Gleichzeitig sollten die Konzentrationsveränderungen der Purinabbauprodukte Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin in Plasma und Harn in Abhängigkeit vom Alter gemessen werden. Als optimale Methode bot sich für diese Aufgabenstellung die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) an, da sie im Vergleich zu anderen Methoden für Purine die präziseste und empfindlichste ist (HARKNESS et al., 1983). Parallel zu unseren biochemischen Untersuchungen wurde an demselben Tiermaterial am Institut für Tierpathologie der Universität München eine elektronenmikroskopische Studie über die Peroxisomen, dem Sitz der Uricase, in den Hepatozyten durchgeführt. Sollte sich die Annahme, daß sich die Aktivität der Enzyme erst in den ersten Lebenstagen entwickelt, bestätigen, so müßte anschließend geklärt werden, warum eine geringe Uricase-Aktivität in den ersten Tagen nicht bei allen Ferkeln zu einem Anstieg der Harnsäure im Blut und zu Auskristallisationen in der Niere führt; offensichtlich müssen dann noch andere Faktoren am Zustandekommen der Niereninfarkte beteiligt sein.

Da die Wiederverwertung von Hypoxanthin und Guanin im salvage pathway auf das Vorhandensein von PRPP angewiesen ist (Abb.1), würde ein Glucosemangel und damit auch ein Mangel an Ribose-5-phosphat und PRPP, zu einer Blockierung des salvage pathway führen und somit die Reutilisierung von Hypoxanthin und Guanin verhindern. Damit würde deren Abbau

bei Überlastung der noch geringen Uricase-Aktivität bei der Harnsäure enden und einen Konzentrationsanstieg im Blut verursachen. Da die Fähigkeit zur Gluconeogenese in den ersten Lebenstagen noch nicht voll entwickelt ist, könnte eine Hypoglykämie, z.B. auf Grund eines Nahrungsdefizites, nicht kompensiert werden und zu diesem Harnsäureanstieg führen. Bestärkt wird diese Annahme durch die Versuche von MADSON et al.(1944), die durch Hungern das Krankheitsbild der Nierengicht bei jungen Saugferkeln auslösen konnten. Auch die Tatsache, daß sich bei der Sektion betroffener Ferkel meist keine oder nur geringste Milchreste in Magen und Darm und fast immer eine starke Abmagerung fanden (MERSMANN,1974), spricht für diese Hypothese.

Eine zweite Möglichkeit, die in Betracht kam, war die verminderte Anpassungsfähigkeit junger Saugferkel an Temperaturbelastungen. In den ersten Lebenstagen sind sie bei einer Umgebungstemperatur unter 32-34°C dazu gezwungen, ihre Körpertemperatur durch Zitterthermogenese aufrechtzuerhalten (NICHELMANN et al.,1975; MERSMANN,1974). Der dadurch erhöhte ATP-Umsatz führt zu einem vermehrten Hypoxanthinanfall. Übersteigt dieser die Kapazität des salvage pathway, so würde auch er zu einer Erhöhung des Harnsäurespiegels im Plasma führen. Diese beiden Hypothesen für die Entwicklung einer Hyperuricämie sollten durch geeignete Versuchsanordnungen geprüft werden.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. VERSUCHSAUFBAU

Die Versuche gliedern sich in 2 Abschnitte. In der ersten Versuchsreihe wurden zur Aktivitätsmessung der Enzyme Uri-case und Xanthin-Oxidase und zur Bestimmung von Blut- und Harnparametern 30 Ferkeln unter Narkose Leber-, Blut- und Harnproben entnommen. In der zweiten Versuchsreihe wurden bei je 3 bzw. 4 Ferkeln 4 Tage lang anhand von Blutkontrollen Veränderungen im Purinendstoffwechsel untersucht.

2.2. VERSUCHSTIERE

Alle Versuche wurden an Ferkeln der Rasse "Deutsches Landschwein" durchgeführt, die vom Lehr- und Versuchsgut Oberschleißheim stammten. Die 30 Tiere der ersten Versuchsserie waren zwischen 2 und 28 Tage alt und erhielten bis zum Versuch ausschließlich Muttermilch.

Die Versuche der zweiten Versuchsserie wurden an jeweils drei bzw. vier Wurfgeschwistern vorgenommen, die bei Versuchsbeginn einen Tag alt waren und vorher ausreichend Kolostralmilch aufnehmen konnten.

2.3. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

2.3.1. Erste Versuchsreihe

2.3.1.1. Probengewinnung

Die Ferkel wurden ca. eine Stunde vor der Probenentnahme zum Transport mit 8.0 mg/kg KGW Azaperon (Janssen, Neuss) sediert. Die Probengewinnung wurde in Vollnarkose durchgeführt (100 mg/kg KGW Metomidat; Janssen, Neuss). Es wurde die Leber entnommen und sofort in flüssigem Stickstoff (Linde, Unterschleißheim) bei -196°C tiefgefroren. Außerdem wurde aus der Aorta abdominalis mit Hilfe einer heparinisierten Spritze eine Blutprobe, aus der Harnblase eine Harnprobe gewonnen. Anschließend wurden die Tiere mit Metomidat getötet. Die Harnprobe wurde sofort bei -18°C portioniert eingefroren, die Blutprobe zuerst bei 750xg 10 min zentrifugiert (Zentrifuge: Sigma 3E-1; Christ, Osterode) und anschließend als Plasma, ebenfalls portioniert und bei -18°C , bis zur Analyse gelagert.

2.3.1.2. Bestimmung der Uricase-Aktivität

Im Anschluß an die Probenentnahme wurde die Leber unter ständiger Zugabe von flüssigem N_2 in einer Reibeschale pulverisiert, um die Uricase aus den Peroxisomen freizusetzen. Nach KLEMPERER et al.(1938) bringt diese Methode bei der Bestimmung der Uricase-Aktivität die besten Ergebnisse. 3 g dieser pulverisierten Leber wurden mit einem, zuvor 20 min lang mit medizinischem Sauerstoff (Linde, Unterschleißheim) begasten, Krebs-Ringer-Phosphatpuffer pH 7.4 (Zusammensetzung und Herstellung siehe FENN,1985) auf 50 ml aufgefüllt und eine Minute unter Kühlung im Eiswasserbad mit einem Ultra-Turrax (Janke und Kunkel KG.,Staufen i.Br.) bei 20.000 U/min homogenisiert. Dieses Homogenat und auch die am

selben Tag frisch hergestellten Harnsäure-Pufferlösungen (ebenfalls Krebs-Ringer-Phosphatpuffer pH 7.4) in Harnsäurekonzentrationen von 100, 200, 400, 600, 800 und 1000 $\mu\text{mol/l}$ wurden 10 min im Schüttelwasserbad (Thermomix 1441; Braun, Melsungen) bei 37°C vorinkubiert. Anschließend wurden 2 ml des Homogenats und je 5 ml der 6 verschiedenen Harnsäure-Pufferlösungen in je einem Kolben vermischt, mit medizin. O_2 30 sec begast, mit einem Gummiseptum verschlossen und im Schüttelwasserbad bei 37°C belassen. Nach 1, 2, 4 und 8 Minuten wurden durch das Gummiseptum hindurch 300 μl des Homogenat-Puffergemisches entnommen, in einem Cup (Eppendorf, Hamburg) mit 300 μl Chloroform (Merck, Darmstadt) 30 sec zur Enzyminaktivierung geschüttelt (Schüttler: Heidolph, Kehlheim) und bei -18°C eingefroren. Die Entnahmezeiten bei dem Homogenat-Puffergemisch mit der zugegebenen Harnsäurekonzentration von 200 $\mu\text{mol/l}$ lagen bei 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30 und 40 Minuten (Zeitabhängigkeit).

2.3.1.3. Bestimmung der Xanthin-Oxidase-Aktivität

Hierfür wurde ebenfalls ein Leberhomogenat hergestellt, wobei diesmal aber 5 g pulverisierte Leber auf 50 ml Puffer aufgefüllt und als Puffer ein mit medizin. O_2 begaster 0.125 molarer Trispuffer pH 8 (Trishydroxymethylaminomethan; Boehringer, Mannheim) verwendet wurde. Die Konzentrationen der Xanthin-Pufferlösungen (Xanthin in Trispuffer pH 8) lagen wiederum bei 100, 200, 400, 600, 800 und 1000 $\mu\text{mol/l}$. Nach der 10 minütigen Vorinkubation im Schüttelwasserbad bei 37°C wurden diesmal 5 ml Homogenat mit je 5 ml der verschiedenen Xanthin-Pufferlösungen gemischt. Nach 5, 10, 20, 30, 40, 50 und 60 Minuten wurden 200 μl des Homogenatpuffergemisches mit 100 μl einmolarer Perchlorsäure (Merck, Darmstadt) versetzt, 15 sec geschüttelt und ebenfalls bei -18°C bis zur Analyse gelagert.

2.3.2. Zweite Versuchsreihe

2.3.2.1. Unmarkierte Versuche in vivo

Jeweils drei Ferkeln wurde am Vormittag des ersten Versuchstages operativ (Narkose: 2 mg/kg KGW Etomidat; Janssen, Neuss) ein Katheter (Abboven 16, dt. Abbott GmbH, Ingelheim) in die vena jugularis externa gelegt. Die Tiere wurden mit einer Spezialmilch (aus der SPF Aufzuchtstation der Tierseuchenkasse Baden-Württemberg in Marbach am Neckar; Zusammensetzung siehe Tabelle 1) ernährt und bei einer Umgebungstemperatur von 32°C gehalten. Um 14° und 20° Uhr wurde den Tieren über den Katheter mit einer heparinisierten Spritze 1-2 ml Blut entnommen, 10 min bei 750xg zentrifugiert, ein Teil des Plasmas bei -18°C eingefroren und der Rest sofort am Glucoseanalyzer (Beckman Instr., München) auf die Glukosekonzentration untersucht. Vom zweiten Versuchstag an wurde ein Ferkel (Hypothermieferkel) einer Temperatur von 20°C ausgesetzt und ein zweites Ferkel (Hypoglykämieferkel) bekam beim 1. und 2. Versuch zweimal am Tag eine subkutane Phloricininjektion (1.2 mg/h * kg KGW; Roth, Karlsruhe; gelöst in Propylenglycol), beim 3. und 4. Versuch 2.4 mg/h * kg KGW, auf vier Tagesdosen verteilt. Phloricin hemmt die Rückresorption der Glucose in der Niere (MAYRS, 1923) und führt damit über eine Glucosurie zu einem Absinken der Glukosekonzentration im Blut. Das dritte Ferkel diente als Kontrolle. Die verabreichte Milchmenge wurde dem Kontrollferkel angepaßt (paired feeding), so daß alle drei Tiere immer dieselbe Flüssigkeitsmenge aufnahmen. Um 8°, 14° und 20° Uhr wurden jeweils 1-2 ml Blut entnommen, z.T. sofort als Plasma eingefroren, z.T. am Glucoseanalyzer untersucht. Am 4. Versuchstag wurden die Ferkel nach der 14° Uhr-Blutprobe mit T61 (Hoechst, Unterschleißheim) getötet.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Spezialmilch * für die
Ferkelernährung
bezogen auf 1 Liter - Fettgehalt 3%

800.0 g	Magermilchpulver
3.3 g	Natriumdihydrogenphosphat
2.0 g	Glucose
666.7 mg	Vitaminmischung
800.0 mg	Eisenlactat
33.3 mg	Butylhydroxyltoluol
26.7 mg	Manganchlorid
0.2 mg	Kaliumjodid
0.1 mg	Cobaltchlorid

* Hersteller: SPF Aufzuchtstation der Tierseuchenkasse
Baden-Württemberg in Marbach am Neckar

2.3.2.2. Radioisotopen-Verdünnungsversuche

Diese Versuche wurden mit je 4 Wurfgeschwistern durchgeführt, mit 2 Hypothermie- und 2 Kontrolltieren. Die Operation, Fütterung und Haltung der Ferkel entsprachen den ersten vier Versuchen dieser Versuchsreihe. Die täglichen Blutprobenentnahmen um 8°, 14° und 20° Uhr entfielen; dafür wurde am Nachmittag des zweiten Versuchstages ein Radioisotopen-Verdünnungsversuch durchgeführt. Dazu wurden beim ersten Versuch jedem Ferkel 15 µCi [2-¹⁴C]-Harnsäure (51 µCi/mmol, Fa. Amersham Buchler, Braunschweig; gelöst in isotoner Kochsalzlösung) über den Katheter injiziert und nach 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 und 120 Minuten wiederum mit heparinisierten Spritzen 1 ml Blut entnommen, 10 min bei 750xg zentrifugiert und bei -18°C eingefroren. Bei den folgenden drei Versuchen wurde nicht nur [2-¹⁴C]-Harnsäure, sondern auch pro Ferkel 50 µCi [G-³H]-Hypoxanthin

(6,2 Ci/mmol, ebenfalls gelöst in isotoner Kochsalzlösung) injiziert. 4 Stunden nach der Injektion der Lösungen wurden die Tiere mit T61 getötet und mittels Blasenpunktion eine Harnprobe gewonnen, die sofort eingefroren wurde.

2.4. ANALYTISCHE METHODEN

2.4.1. Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)

Das HPLC-System bestand aus einer Pumpe (Chromatography Pump Model M-6000A; Waters Associates, Königstein/Ts.), einem Einspritzsystem (Model U6K Injektor, Waters Ass.), je nach Anforderung einem Festwellenlängendetektor (Model 440 Absorbance Detector, Waters Ass.) oder einem Detektor mit variabler Wellenlänge (Model 450 Variable Wavelength Detector, Waters Ass.) und einem Integrator (3380A Integrator; Hewlett Packard, Frankfurt). Für die Analyse von Harnsäure und Xanthin in den Leberhomogenatproben wurde eine Reversed-Phase - Säule (300 mm x 4 mm) gefüllt mit Sherisorb ODS II 5 µm (Bischoff Analystechnik, Leonberg) verwendet. Die Plasma- und Harnproben wurden mit einer Reversed - Phase - Säule der Fa. Grom Ammerbuch (500 mm x 4.6 mm) analysiert, ebenfalls gefüllt mit Sherisorb ODS II 5 µm. Reversed - Phase - Säulen sind derzeit die Besten für die Bestimmung von Purinen in Plasma und Harn (SENFTLEBER et al., 1976; BROWN et al., 1979; ZAKARIA & BROWN, 1981). Die Säule wurde mit einer Vorsäule (30 mm x 4.6 mm) geschützt, die mit Perisorb-RP 18 30-40 µm (Merck, Darmstadt) gefüllt war und nach ca. 30 - 50 Analysen erneuert wurde. Die Säule selbst ließ sich nach 50 Analysen mit Methanol, Chloroform und n Hexan (Merck, Darmstadt) regenerieren.

Als Elutionsmittel wurde eine Ammoniumdihydrogenphosphat-Pufferlösung ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; Merck, Darmstadt) verwendet, deren Molarität und pH den jeweiligen Erfordernissen angepaßt wurden. Der Puffer wurde täglich frisch mit hochgereinigtem Aqua bidest. (Milli-Q Water Purification System; Molsheim, Frankreich) hergestellt, anschließend durch ein Membranfilter ($0.45\text{ }\mu\text{m}$ Type HA, Millipore Corporation, Bedford Mass.) gefiltert und 5 min im Unterdruck entgast. Die bei der Messung verwendete Flußrate lag zwischen 0.8 und 1.5 ml/min, die Wellenlänge bei 218, 254 oder 280 nm.

Die Standardlösungen (Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin) wurden ebenfalls mit filtriertem Aqua bidest. hergestellt und zwar in einer der jeweiligen Proben angepaßten Konzentration. Die Standards für die Plasma- und Harnprobenbestimmung wurden täglich frisch angesetzt. Die Harnsäure- und Xanthinstandards für die Analyse der Homogenatproben wurden portioniert eingefroren. Ihre Konzentration wurde alle 1-2 Wochen überprüft und es konnte in den sechs Monaten Analysenzeitraum keine Veränderung festgestellt werden. Alle Standards wurden von Serva, Heidelberg, im Reinheitsgrad pro analysi bezogen.

Die Identifizierung der Banden erfolgte nach den Angaben von HARTWICK & BROWN (1976) und KRSTULOVIC et al. (1977) anhand der Retentionszeit, der Standardzugabe zur Probe, dem Verhältnis der Peakgrößen von 254 nm und 280 nm, und bei Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin durch enzymatische Behandlung der Probe mit Uricase und Xanthin-Oxidase (Sigma, St. Louis USA). Die Konzentrationen der einzelnen Substanzen in den Proben wurden durch Vergleich ihrer Peakflächen (berechnet vom Integrator bzw. in Zweifelsfällen von Hand nach der Methode von SCHWEDT (1979)) mit den Peakflächen von Standards bekannter Konzentration berechnet.

Die Präzision des HPLC-Systems lag bei 1.17 % (n=7), die Wiederfindung im Plasma bei 81.9 % für Harnsäure, bei 88.0 % für Allantoin, bei 99.9 % für Hypoxanthin und bei 90.7 % für Xanthin; im Harn bei 94.7 % für Harnsäure, bei 99.2 % für Allantoin, bei 99.9 % für Hypoxanthin und bei 94.0 % für Xanthin (jeweils n=6). Alle am HPLC-System gemessenen Konzentrationen wurden anhand dieser Werte auf 100% hochgerechnet.

2.4.1.1. Homogenatproben zur Bestimmung der Uricase- und Xanthin-Oxidase-Aktivität

Die Leberhomogenatproben der Uricaseversuche wurden zur Bestimmung der Harnsäurekonzentration bei Zimmertemperatur aufgetaut, 15 min bei 10.000xg zentrifugiert (Zentrifuge 5413; Eppendorf, Hamburg), der enteiweißte Überstand abpipettiert, und 10 µl davon im HPLC-System analysiert. Der $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ -Puffer hatte eine Molarität von 0.01 mol/l und einen pH von 6.0, der mit einer verdünnten NH_4OH -Lösung eingestellt wurde. Die Flußrate betrug 1.0 ml/min, die Wellenlänge 280 nm.

Zur Bestimmung der Xanthin-Oxidase-Aktivität wurden die Leberhomogenatproben ebenfalls bei Zimmertemperatur aufgetaut, 15 min bei 10.000xg zentrifugiert und 10 µl des Überstandes im HPLC-System analysiert. Für die Xanthin-Messung lag der pH des $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ -Puffers bei 4.8, die Flußrate bei 1.5 ml/min und die Wellenlänge bei 254 nm.

2.4.1.2. Plasmaproben

200 µl der aufgetauten Plasmaproben wurden zur Proteinfällung mit 200 µl gekühlter einmolarer Perchlorsäure versetzt, 15 sec geschüttelt und anschließend 15 min zentrifugiert (10.000xg). Der Überstand wurde mit einer KOH-Lösung neutralisiert, wiederum 15 sec geschüttelt, 15 min im Eiswasserbad gekühlt und 15 min zentrifugiert. Um noch verbliebene lipophile Substanzen zu entfernen, wurden dem Überstand 300 µl Chloroform zugegeben, 3 min geschüttelt und ein letztes Mal 15 min zentrifugiert. 10 µl des Überstandes wurden im HPLC-System auf die Hypoxanthin-, Xanthin- und Harnsäurekonzentration untersucht. Dem 0.01 molaren $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ -Puffer wurden dazu 10 % Methanol zugemischt und die Flußrate auf 0.8 ml/min herabgesetzt. Die Wellenlänge betrug 254 nm. Die Allantoinbestimmung in den Plasmaproben wurde nach der Methode von TIEMEYER & GIESECKE (1982) bei einer Wellenlänge von 218 nm durchgeführt, und die Molarität des Puffers (der hierfür keinen Methanolzusatz enthielt) lag bei 0.005 mol/l, der mit verdünnter Phosphorsäure eingestellte pH bei 3.4.

2.4.1.3. Harnproben

Die Harnproben wurden nach dem Auftauen zur Reinigung von lipophilen Substanzen mit gleicher Menge Chloroform versetzt, 3 min geschüttelt und 15 min zentrifugiert (10.000xg). Der Überstand wurde 1 : 10 mit dem Elutionsmittel verdünnt und 10 µl davon wurden auf die Hypoxanthin-, Xanthin-, Harnsäure- und Allantoinkonzentrationen analysiert. Die Chromatographiebedingungen entsprachen denen der Plasmaprobenbestimmung.

2.4.2. Glucosebestimmung

Die Bestimmung der Glucosekonzentration in den Plasmaproben der ersten 4 Versuche in vivo wurde mittels der enzymatischen Methode nach KADISH et al.(1968) mit Hilfe eines Glucoseanalyzers der Fa.Beckman Instr.(München) durchgeführt. Die Wiederfindung lag bei 98.9 % (n=7).

2.4.3. Radioaktivitätsmessungen

Die Hypoxanthin-, Xanthin-, Harnsäure- und Allantoinpeaks der Plasma- und Harnproben der Radioisotopen-Verdünnungsversuche wurden bei der Analyse am HPLC-System einzeln am Austritt aus dem Detektor aufgefangen und mit je 19 ml Szintillatorflüssigkeit (Quickszint 212; Zinsser Analytik GmbH, Frankfurt) gemischt. Die Radioaktivität (Zerfälle pro Minute) dieser Proben wurde im Flüssigszintillationszähler (Tri-Carb, Model 4530; Packard Instr., Frankfurt) 3 x 5 min ausgezählt.

2.5. BERECHNUNGEN

2.5.1. Berechnung der kinetischen Größen der Enzyme Uricase und Xanthin-Oxidase

Um die Geschwindigkeiten des Harnsäure- bzw. Xanthinabbaues durch die Enzyme Uricase und Xanthin-Oxidase zu bestimmen, wurde die Differenz der Harnsäure- bzw. Xanthinkonzentration im Leberhomogenat pro Zeiteinheit berechnet und auf 1 g Lebernaßgewicht bezogen. Mittels der Abbaugeschwindigkeiten bei verschiedenen Anfangskonzentrationen wurde für jedes

Tier eine Michaelis-Menten-Gleichung aufgestellt (BERGMAYER, 1977). Diese Gleichung wurde sowohl nach der Methode von HOFSTEE (1959) als auch von WILKINSON (1961) linear transformiert und damit die maximale Reaktionsgeschwindigkeit V_{max} und die Michaeliskonstante K_m bestimmt.

HOFSTEE berechnet diese kinetischen Parameter nach der Gleichung:

$$v = -K_m * v/s + V_{max}$$

Dabei wird die Abbaugeschwindigkeit v auf der Y-Achse, der Quotient Geschwindigkeit zu Substrat-Anfangskonzentration (v/s) auf der X-Achse aufgetragen. Die Neigung der transformierten Geraden entspricht zahlenmäßig der Michaeliskonstanten K_m , der Schnittpunkt mit der Y-Achse der Maximalgeschwindigkeit V_{max} .

WILKINSON berechnet die Michaeliskonstante und die maximale Reaktionsgeschwindigkeit nach der Gleichung:

$$s = V_{max} * s/v - K_m$$

Hierfür wird die Harnsäure- bzw. Xanthin-Anfangskonzentration auf der Y-Achse, der Quotient Konzentration zu Abbaugeschwindigkeit (s/v) auf der X-Achse aufgetragen. Die Steigung der daraus resultierenden Geraden entspricht der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit V_{max} , der Schnittpunkt mit der Y-Achse zahlenmäßig der Michaeliskonstanten K_m . Zur vergleichenden Auswertung der Uricase-Aktivität mit der Dichte der Peroxisomen-Cores in den Hepatozyten desselben Tiermaterials wurden Daten (angegeben in Zahl der Cores pro $1000\mu m^2$ Leberfläche) aus der Untersuchung von LAGING (1985) herangezogen.

2.5.2. Berechnungen zu den Radioisotopen-Verdünnungsversuchen

Die Berechnung des Harnsäure- und Hypoxanthinumsatzes (Turnover T_u) erfolgte anhand des zeitlichen Verlaufs der spezifischen Radioaktivität $SA(t)$ von injizierter $[2-^{14}C]$ -Harnsäure bzw. $[6-^3H]$ -Hypoxanthin im Blutplasma. Für die weiteren Berechnungen sowie den direkten graphischen Vergleich individueller zeitabhängiger SA -Verlaufskurven erwies es sich als günstig, die über die Radioaktivitätskonzentration (kBq/l) und die Stoffkonzentration ($\mu mol/l$) zu berechnende spezifische Radioaktivität SA ($kBq/\mu mol$) entsprechend der folgenden Form zu normalisieren:

$$SA(t_i)_N = 100 * SA(t_i) / D$$

wobei $SA(t_i)_N$ die normalisierte spezifische Radioaktivität zur Zeit i , ausgedrückt in Prozent der applizierten Tracerdosis D , darstellt.

Die jeweiligen Umsatzraten T_u , bezogen auf das Körpergewicht, ($\mu mol / h * kg$) wurden entsprechend den Angaben von HETENYI & NORWICH (1974) bzw. von KATZ et al. (1974) erhalten, indem die applizierte Tracerdosis D durch die Fläche des $SA(t)$ -Verlaufs für den Zeitraum $i = 0$ bis 120 min dividiert wurde:

$$T_u = D / \int_0^{120} SA * dt$$

Die dafür erforderliche $SA(t)$ -Fläche wurde durch Anpassung einer mehr-exponentiellen Kurvenfunktion der allgemeinen Form

$$SA(t) = SA * \sum_{i=0}^n A_i * e^{-b_i t}$$

an die Meßwerte und durch Integration dieser Gleichung für den Zeitraum $t = 0$ bis 120 min erhalten. Die Kurvenanpassung wurde mit Hilfe eines Digital Computers (Wang PC, Frankfurt) nach einem iterativen, nichtlinearen Regressionsverfahren

berechnet. Die Anpassung erfolgte nach dem Prinzip der kleinsten Summe der Abstandsquadrate der gemessenen von den berechneten SA-Werten. In allen Fällen konnte eine optimale Anpassung im vorgegebenen Zeitraum durch eine dreifach zusammengesetzte Exponentialfunktion entsprechend der Form

$$SA(t) = SA * \sum_{i=0}^3 A_i * e^{-b_i t}$$

erzielt werden.

Für eine kompartmentelle Betrachtungsweise des metabolischen Schicksals von $[2-^{14}C]$ -Harnsäure bzw. $[6-^3H]$ -Hypoxanthin unter Bedingungen des steady state bedeutet dies, daß mindestens drei Kompartimente am Zustandekommen des SA(t)-Verlaufs beteiligt sind. In der vorliegenden Untersuchung wurde diese Tatsache dazu genutzt, den insgesamt frei verfügbaren Harnsäure- bzw. Hypoxanthinpool zu berechnen, indem unterstellt wurde, daß zwei der drei Kompartimente, und zwar in Form des intravasalen Sammel- oder Meßkompartments (Kp1) und eines extravasalen, extrazellulären Folgekompartments (Kp2), diesen Gesamtbestand (Q1+2) an frei verfügbarer Harnsäure bzw. Hypoxanthin beinhalten. Das dritte Kompartiment würde demnach ein intrazelluläres Stoffwechselkompartiment (Kp3) darstellen.

Berechnet wurde dieser Gesamtbestand an frei verfügbarer Harnsäure bzw. frei verfügbarem Hypoxanthin mit Hilfe eines Rechenprogrammes der Form

$$Q1 = D / SA ; \quad Q2 = Q1 * \text{Summe aller Eingänge ins Kp2 (k12)} / \text{Summe aller Ausgänge vom Kp2 (k23 + k21)},$$

das uns von der Fa. Thomae (Biberach) unter der Bezeichnung "Topfit", 3-Kompartimentmodell-Variante 55) überlassen wurde. Dieses 3-Kompartimentmodell ist charakterisiert durch zwei Stoffpools (Q1, Q2), einem Metabolitpool (Q3) und 5 verschiedenen Stoffumsatzraten ($k_{01} = k_{30}$, k_{12} , k_{21} , k_{23} , k_{31}). Nähere Einzelheiten können der Habilitationsschrift von STANGASSINGER (1986) entnommen werden.

2.6. STATISTIK

Die Ergebnisse wurden meist als Mittelwerte mit Standardabweichung ($\bar{x} \pm SD$) angegeben. Unterschiede zwischen Stichproben wurden mit Hilfe des U-Tests für unabhängige Stichproben von Wilcoxon, Mann und Whitney (SACHS, 1984) auf Zufallswahrscheinlichkeit geprüft. Methoden zu Korrelationsberechnungen und Prüfung von Ausreißern (Test nach DIXON) wurden ebenfalls dem Buch "Angewandte Statistik" (Sachs, 1984) entnommen.

3. E R G E B N I S S E

3.1. URICASE-AKTIVITÄT

3.1.1. Enzymatischer Harnsäureabbau im Leberhomogenat

Bei der Bestimmung der Harnsäurekonzentration im Leberhomogenat der 30 Ferkel der ersten Versuchsreihe in Abhängigkeit von der Inkubationszeit zeigen sich mit zunehmendem Alter der Ferkel unterschiedliche Ergebnisse: Die Harnsäureabbau-geschwindigkeit durch die Uricase, die auf 1 g Lebernaßge-wicht bezogen ist, steigt mit zunehmendem Alter bis zur 4.Lebenswoche an. Bei einer Anfangskonzentration der Harn-säure von $170.1 \pm 14.4 \mu\text{mol/l}$ im Leberhomogenat wurde die Abnahme der Harnsäurekonzentration 40 Minuten lang verfolgt (Zeitabhängigkeit). Dabei fällt die Harnsäurekonzentration bei jungen Ferkeln wesentlich langsamer ab als bei älteren Tieren. Abbildung 2 stellt ein Beispiel aus der 1.Lebens-woche (Ferkel 6) einem Ferkel aus der 4.Lebenswoche (Ferkel 25) gegenüber, mit den Abbaugeschwindigkeiten von $20.9 \text{ nmol/min} \cdot \text{g Leber}$ bzw. $389.1 \text{ nmol/min} \cdot \text{g Leber}$. Die Abbaugeschwin-digkeiten der Harnsäure bei allen 30 Ferkeln bei der An-fangskonzentration von $170.1 \pm 14.4 \mu\text{mol/l}$ sind in Tabelle 2 wiedergegeben. Die großen Unterschiede zwischen den einzel-nen Werten, bes. in der 1.Lebenswoche (die Standardabweichung liegt hier bei 103 %), sind durch eine individuell stark unterschiedliche Entwicklung bedingt, die von Woche zu Woche geringer wird (die Standardabweichung in der 4. Woche beträgt nur mehr 25 %). Faßt man die Werte aller Ferkel einer Woche zu einem Mittelwert zusammen, so unterscheiden sich diese Wochenmittelwerte der 1. und 2. Woche mit $p < 0.001$ und der 2. und 3. Woche mit $p < 0.025$ signifikant. Der Mittelwert der 4. Woche beträgt das 19 fache des Wertes der 1. Woche. In Abbildung 3 ist die Zunahme der Uricase-Aktivität in Abhängigkeit vom Alter graphisch dargestellt.

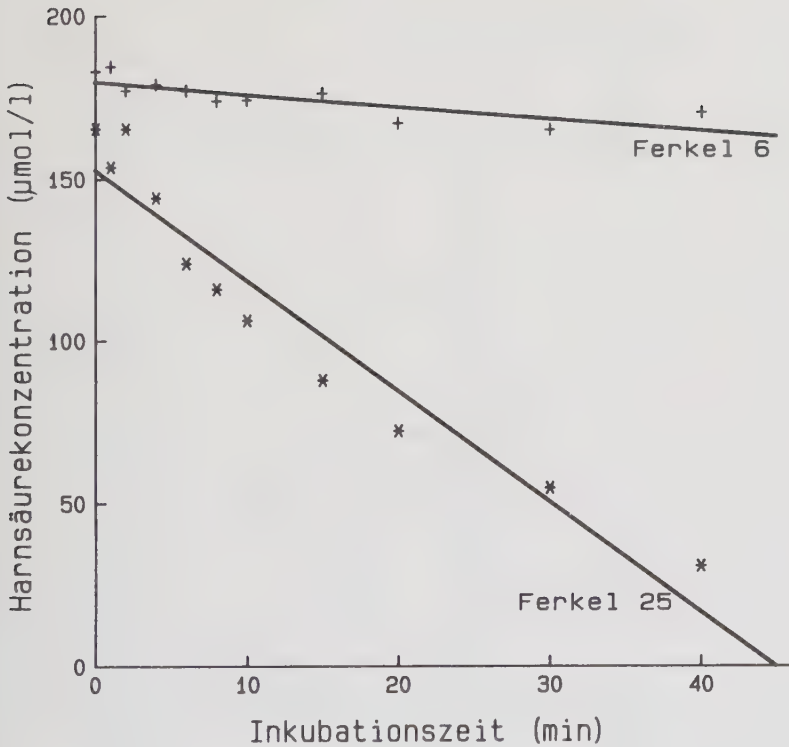


Abbildung 2:

Harnsäurekonzentration im Leberhomogenat in Abhängigkeit von der Inkubationszeit

Ferkel 6 (5 Tage alt), 1.Lebenswoche:

$y = 180.2 - 0.357 x$; $n = 11$; $r = -0.80$; $p < 0.001$;

Harnsäureabbaugeschwindigkeit $v = 20.9 \text{ nmol/min*g Leber}$;

Ferkel 25 (23 Tage alt), 4.Lebenswoche:

$y = 153.1 - 3.395 x$; $n = 11$; $r = -0.96$; $p < 0.001$;

Harnsäureabbaugeschwindigkeit $v = 389.1 \text{ nmol/min*g Leber}$;

Tabelle 2: Uricase-Aktivität im Leberhomogenat in
Abhängigkeit vom Alter *

Ferkel nummer	Alter in Tagen	Abbaugeschw. (nmol/min*g)	$\bar{x}$ (nmol / min*g)	SD	n
1	2	13.2			
2	3	53.6			
3	3	9.1			
4	4	7.2			
5	4	7.0	23.1	23.8	8
6	5	20.9			
7	6	67.2			
8	6	6.8			
9	8	81.3			
10	9	108.5			
11	10	181.9			
12	10	40.6			
13	11	244.2	128.2	73.9	8
14	11	52.6			
15	12	112.5			
16	13	203.6			
17	17	55.4			
18	17	10.3			
19	17	219.0			
20	17	183.8			
21	19	766.4	350.2	233.8	8
22	19	462.9			
23	19	231.7			
24	19	572.3			
25	23	389.1			
26	25	529.8			
27	26	280.4			
28	26	365.8	438.6	109.2	6
29	27	516.7			
30	28	549.9			

* bei einer Harnsäure-Anfangskonzentration von $170.1 \pm 14.4 \mu\text{mol/l}$

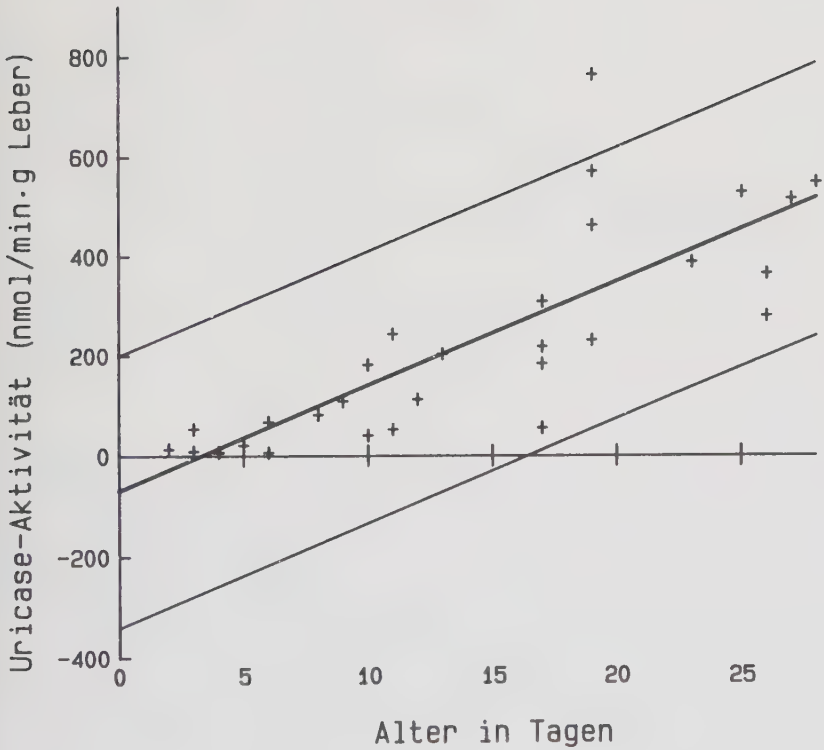


Abbildung 3:

Uricase-Aktivität im Leberhomogenat in Abhängigkeit vom Alter, bei einer Anfangskonzentration der Harnsäure von $170.1 \pm 14.4 \mu\text{mol/l}$

(eingezeichnet der Vertrauensbereich von 95 %)

$y = 21.0 x - 69.1$; $n = 30$; $r = 0.81$; $p < 0.001$;

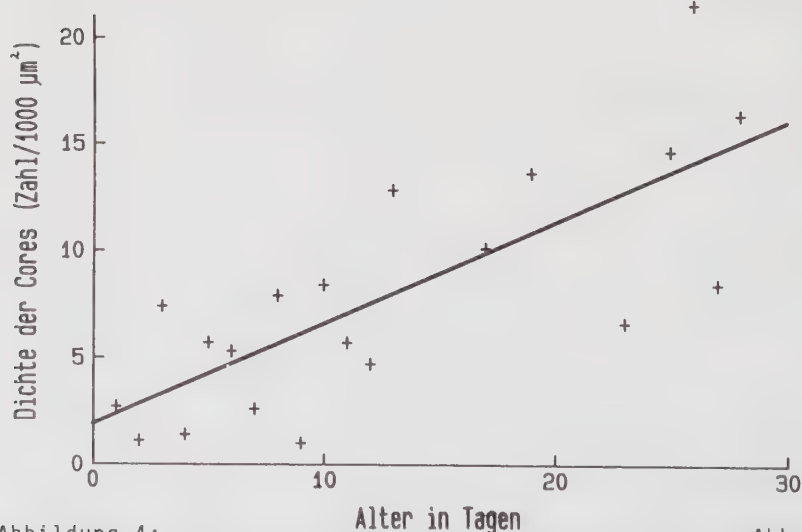
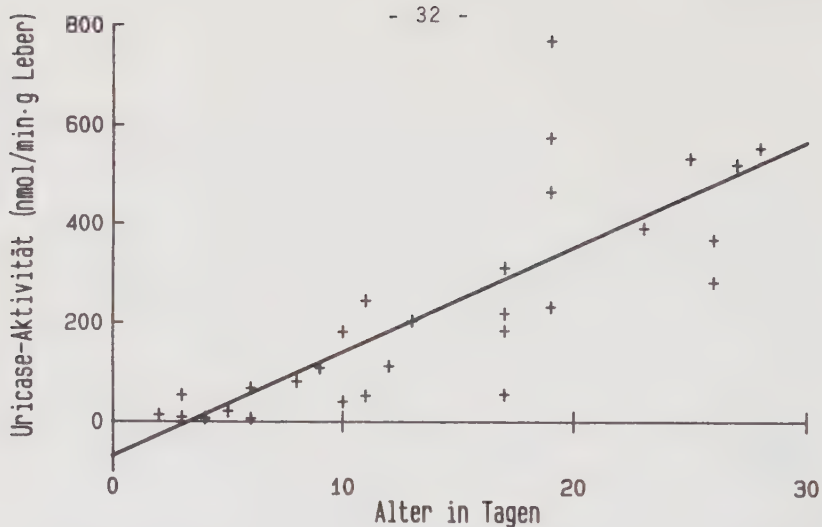


Abbildung 4:

Vergleich der Uracase-Aktivität im Leberhomogenat mit der Dichte der Peroxisomen-Cores in den Hepatozyten, in Abhängigkeit vom Alter

Abb.4a: Uracase-Aktivität

$$y = 21.0 x - 69.1 ; n = 30 ; r = 0.81 ; p < 0.001 ;$$

Abb 4b: Dichte der Cores

$$y = 0.47 x + 1.87 ; n = 20 ; r = 0.76 ; p < 0.001 ;$$

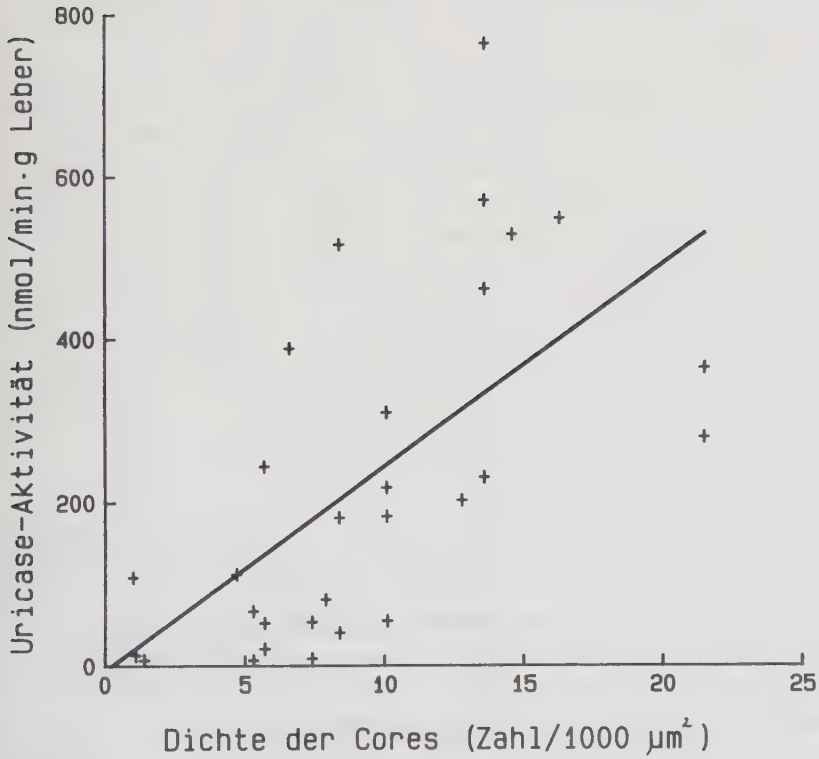


Abbildung 5:

Korrelation zwischen der Uricase-Aktivität und der Dichte der Cores

$$y = 25.0 x - 6.2 ; n = 30 ; r = 0.64 ; p < 0.01 ;$$

Der Vergleich der Uricase-Aktivität im Leberhomogenat mit den Ergebnissen der elektronenmikroskopischen Untersuchungen von LAGING am Institut für Tierpathologie der Universität München über die Dichte der Peroxisomen-Cores, dem Sitz der Uricase, in den Hepatozyten, zeigt eine gute Übereinstimmung (Abb.4). Jedoch steigt die Uricase-Aktivität von der 1. zur 4. Woche auf das 19 fache, die Dichte der Peroxisomen-Cores nur auf das 4 fache. Auch zum Zeitpunkt der Geburt sind anhand der Regressionsgeraden (beide mit $p < 0.001$) Unterschiede zu erkennen: Bei schon vorhandenen Peroxisomen-Cores in den Hepatozyten ist noch keine Uricase-Aktivität nachweisbar. Die positive Korrelation zwischen Beiden mit $p < 0.01$ zeigt Abbildung 5.

3.1.2. Konzentrationsabhängigkeit der Uricase-Aktivität

Der Harnsäureabbau im Leberhomogenat, also die Uricase-Aktivität, wurde bei 6 verschiedenen Anfangskonzentrationen der Harnsäure untersucht. Die Michaelis-Menten-Darstellung zeigt die Uricase-Aktivität in Abhängigkeit von der Harnsäure-Anfangskonzentration. In Abbildung 6 wird diese Darstellung von einem Ferkel der 1. Lebenswoche (Ferkel 6) und einem Ferkel der 4. Lebenswoche (Ferkel 28) gezeigt. Im Idealfall sollte diese Graphik einer Sättigungskinetik folgen. Beim Ferkel 28 ist dies auch der Fall. Bei Ferkel 6 jedoch liegen die Werte der Abbaugeschwindigkeiten nicht nur weit niedriger, sondern steigen auch nur gering und linear an. Diese Unterschiede zwischen verschiedenen Altersstufen verdeutlicht auch Abbildung 7. Hier sind die Wochenmittelwerte der Uricase-Aktivität bei den verschiedenen Harnsäure-Anfangskonzentrationen aufgetragen, die auch in Tabelle 3 zusammengefaßt sind. Die Abbaugeschwindigkeit nimmt von der 1. zur 4. Woche stetig zu.

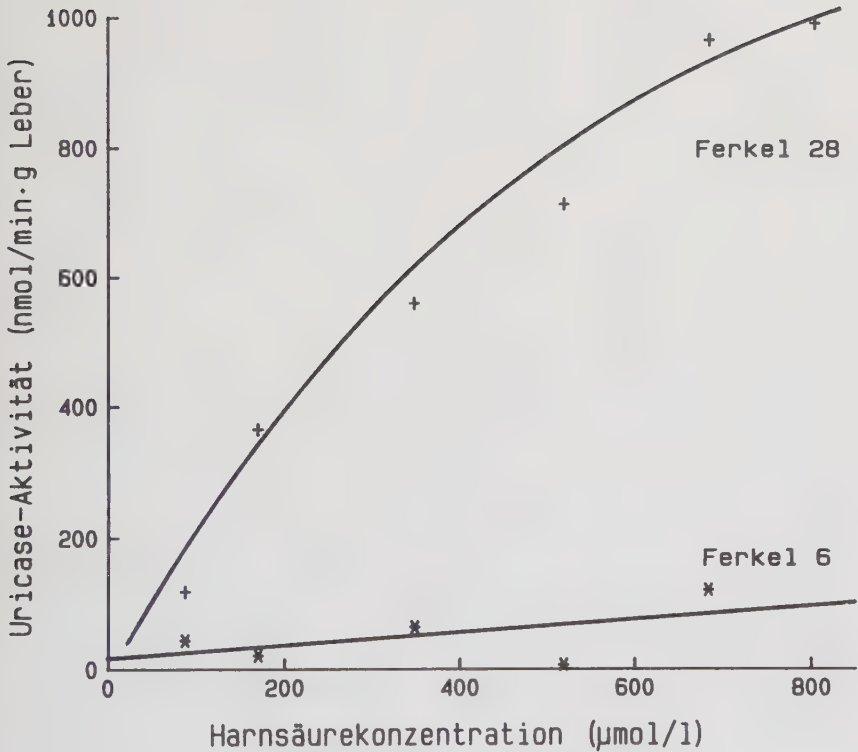


Abbildung 6:

Uricase-Aktivität in Abhängigkeit von der Anfangskonzentration der Harnsäure (Michaelis-Menten-Beziehung)

Ferkel 6 (5 Tage alt), 1.Lebenswoche:

$y = 0.10 x + 16.6$; $n = 5$;

Ferkel 28 (26 Tage alt), 4.Lebenswoche

(geschätzter Kurvenverlauf);

Tabelle 3: Uricase-Aktivität bei verschiedenen Anfangskonzentrationen der Harnsäure

Harnsäure- konzentration*	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
$\bar{x} \pm SD$ ($\mu\text{mol/l}$)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)
37.4 ± 10.4	97.8 ± 129.5 (8)	107.9 ± 78.1 (8)	187.2 ± 58.5 (8)	235.3 ± 76.4 (8)
170.1 ± 14.4	23.1 ± 23.8 (8)	128.2 ± 73.9 (8)	350.2 ± 233.8 (8)	438.6 ± 109.2 (8)
348.4 ± 20.6	121.1 ± 104.9 (8)	276.7 ± 147.3 (8)	383.9 ± 115.6 (8)	465.6 ± 236.2 (8)
518.7 ± 25.1	150.4 ± 207.3 (8)	296.0 ± 210.5 (8)	523.8 ± 208.9 (8)	926.6 ± 283.2 (8)
683.6 ± 28.9	92.7 ± 176.6 (8)	288.5 ± 248.7 (8)	442.0 ± 317.9 (8)	831.6 ± 402.7 (8)
803.6 ± 31.4	138.3 ± 192.2 (8)	407.7 ± 434.9 (8)	398.7 ± 363.4 (8)	973.3 ± 220.0 (8)

* Im Ansatz gemessene Anfangskonzentration

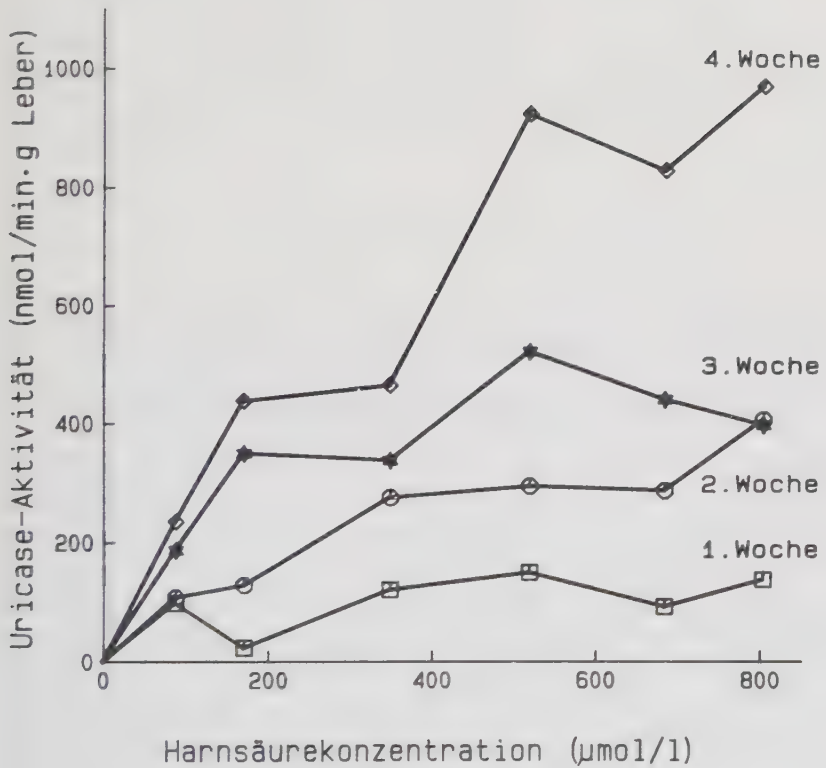


Abbildung 7:

Uricase-Aktivität in Abhängigkeit von der Anfangskonzentration der Harnsäure

Werte siehe Tabelle 3

Die Anfangskonzentrationen der Harnsäure in Tabelle 3 wurden im Leberhomogenat unmittelbar nach Zugabe der Harnsäurepufferlösungen gemessen. Da bei diesen Werten auch die Harnsäurekonzentrationen des Lebergewebes selbst miteingehen, erhält man für jedes Ferkel unterschiedliche Werte. Dadurch erklärt sich die Standardabweichung der einzelnen Anfangskonzentrationen.

3.1.3. Charakterisierung der Uricase-Aktivität

Zur Charakterisierung von Enzymen dient die Angabe der Maximalgeschwindigkeit V_{max} und der Affinität zum Substrat, ausgedrückt als Michaeliskonstante K_m . Die Berechnung kann auf verschiedene Arten erfolgen. Hier wird sowohl die Transformation nach HOFSTEE als auch die nach WILKINSON berücksichtigt. Abbildung 8a zeigt die Transformation nach HOFSTEE bei Ferkel 22 (19 Tage alt), wobei die transformierten Werte und die daraus berechnete Gerade dargestellt sind. Abbildung 8b enthält entsprechend die Transformation nach WILKINSON. Die große Streuung der Abbaugeschwindigkeitswerte auf Grund der unterschiedlichen individuellen Entwicklung, besonders bei Ferkeln der 1. Lebenswoche, macht eine Berechnung oft unmöglich, da aus den transformierten Werten keine Gerade berechnet werden kann und sich somit auch keine V_{max} und K_m ergeben. Die zu berechnenden Werte sind in Tabelle 4 aufgelistet. Die Maximalgeschwindigkeit nimmt von der 1. zur 4. Woche zu. Doch besteht ein signifikanter Unterschied nur von der 1. zur 2. und von der 2. zur 3. Woche ($p < 0.05$ bzw. $p < 0.025$). Ihr Wert steigt von der 1. zur 4. Woche auf das 11 fache an. Auch die Michaeliskonstante steigt von der 1. zur 4. Woche an, wobei aber nur zwischen der 3. und 4. Woche ein signifikanter Unterschied besteht. Die Zunahme der Michaeliskonstanten mit dem Alter erklärt sich aus der Zunahme der Maximalgeschwindigkeit, da für eine höhere Umsatzgeschwindigkeit auch eine höhere Substratkonzentration erforderlich ist.

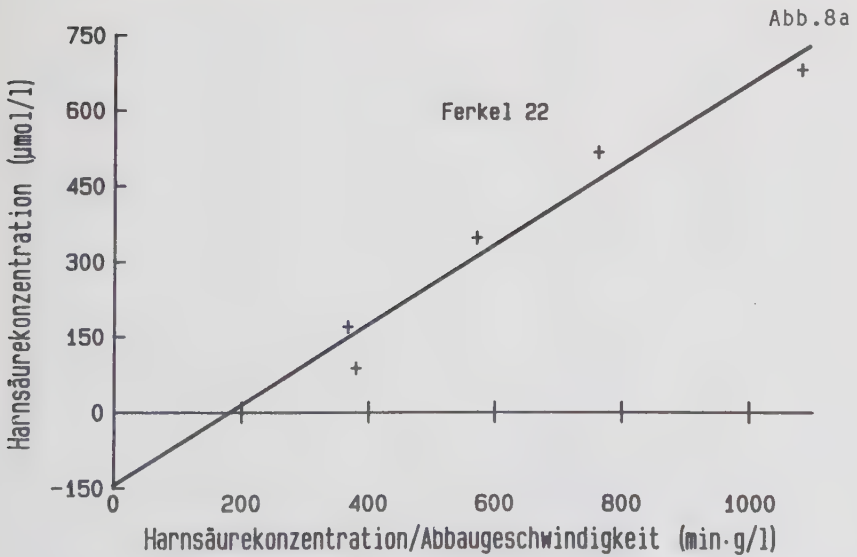
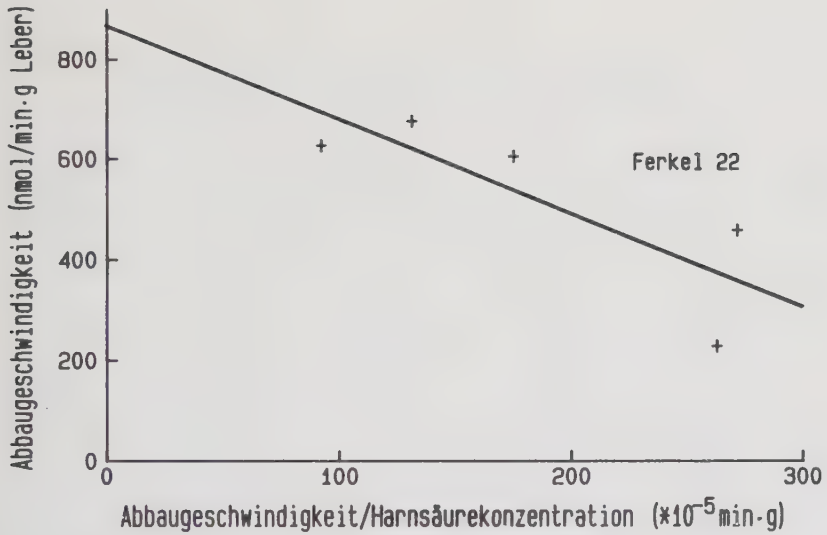


Abbildung 8:

Abb. 8b

Transformation der Michaelis-Menten-Darstellung der Uricase-Aktivität nach HOFSTEE (Abb. 8a) und nach WILKINSON (Abb. 8b)

Tabelle 4: Maximale Uricase-Aktivität (Vmax) und Michaelis-konstante (Km), in Abhängigkeit vom Alter

Ferkel nummer	Alter in Tagen	Vmax (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD(n)$ (nmol/min*g)	Km (μ mol/l)	$\bar{x} \pm SD(n)$ (μ mol/l)
1	2	0		---	
2	3	144.6		10.2	
3	3	0		---	
4	4	---		---	
5	4	---	93.4 ± 136.6	---	60.1 ± 75.0
6	5	41.2	(6)	50.5	(4)
7	6	349.9		10.6	
8	6	24.6		169.0	
9	8	134.4		46.8	
10	9	333.3		17.0	
11	10	425.1		139.9	
12	10	81.0		83.3	
13	11	535.3	284.5 ± 176.9	81.6	124.3 ± 130.5
14	11	198.0	(6)	377.0	(6)
15	12	---		---	
16	13	---		---	
17	17	287.7		29.7	
18	17	458.8		79.5	
19	17	650.4		305.1	
20	17	805.8		219.7	
21	19	810.2	593.5 ± 214.0	87.6	127.1 ± 93.4
22	19	796.1	(8)	143.4	(8)
23	19	324.8		106.5	
24	19	614.2		44.9	
25	23	506.4		94.3	
26	25	944.3		175.5	
27	26	1604.9		345.0	
28	26	1364.2	1030.9 ± 486.3	489.7	258.6 ± 139.5
29	27	427.1	(6)	225.5	(6)
30	28	1338.2		221.7	

--- nicht zu berechnende Werte (siehe S.38)

3.2. XANTHIN-OXIDASE-AKTIVITÄT

3.2.1. Enzymatischer Xanthinabbau im Leberhomogenat

Auch bei diesem Enzym zeigt sich ein deutlicher Einfluß des Alters auf die Aktivität. So nimmt bei einer Anfangskonzentration des Xanthins von $154.6 \pm 13.1 \mu\text{mol/l}$ beim Ferkel 8 (6 Tage alt) der 1.Lebenswoche die Xanthinkonzentration mit einer Geschwindigkeit von $v = 8.5 \text{ nmol/min} \cdot \text{g Leber}$ ab, bei Ferkel 26 (25 Tage alt) der 4.Lebenswoche jedoch mit $v = 40.0 \text{ nmol/min} \cdot \text{g Leber}$ (Abb.9). Die Werte der Ferkel 27 und 28 (beide aus der 4.Lebenswoche) müssen als Ausreißer eliminiert werden. Die Abbaugeschwindigkeiten der restlichen 28 Ferkel bei der Xanthin-Anfangskonzentration von $154.6 \pm 13.1 \mu\text{mol/l}$ enthält Tabelle 5, die graphische Darstellung dazu Abbildung 10. Hier besteht nur zwischen den Wochenmittelwerten der 1. und 2. Woche ein signifikanter Unterschied ($p < 0.005$). Außerdem steigt die Xanthin-Oxidase-Aktivität von der 1. zur 4. Woche nur auf das 3.3 fache, die Uricase-Aktivität in demselben Zeitraum bei gleicher Substrat-Anfangskonzentration auf das 19 fache, bei fast gleichen Ausgangswerten in der 1.Lebenswoche. Die graphische Darstellung der positiven Korrelation zwischen der Uricase- und der Xanthin-Oxidase-Aktivität zeigt Abbildung 11. Bei niedrigen Aktivitätswerten erkennt man einen vergleichbaren Anstieg der Uricase- und Xanthin-Oxidase-Aktivität. Erst bei höheren Uricase-Aktivitätswerten, also mit zunehmendem Alter, steigt die Xanthin-Oxidase-Aktivität nicht mehr entsprechend mit an. Die Zunahme der Xanthin-Oxidase-Aktivität endet also eher als die der Uricase-Aktivität. Auch die großen individuellen Schwankungen der Uricase-Entwicklung in der 1.Lebenswoche zeigen sich bei der Xanthin-Oxidase nicht so deutlich. Bei ihr liegt die Streuung in der 1. Woche nur bei 62 %, im Vergleich zu 103 % bei der Uricase.

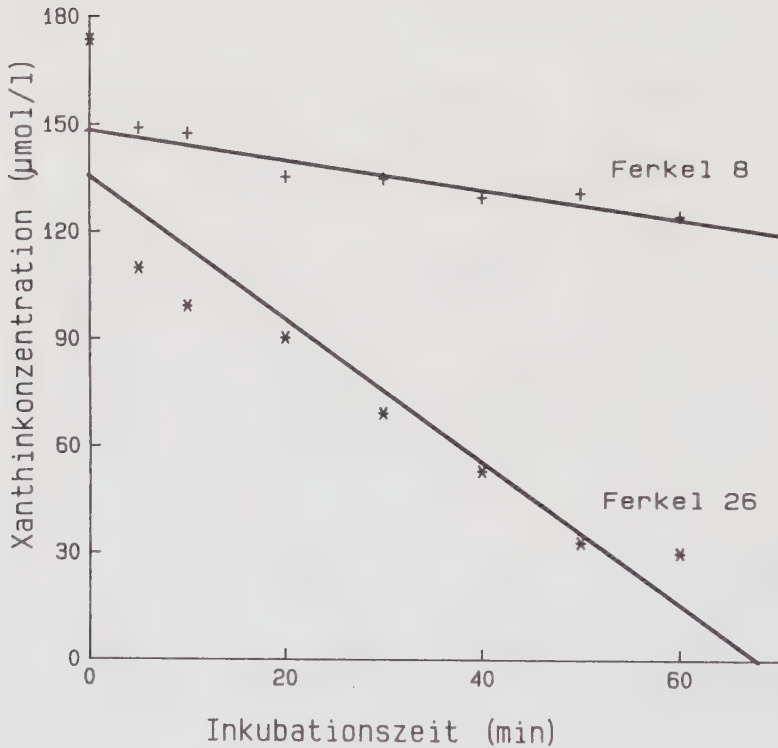


Abbildung 9:

Xanthinkonzentration im Leberhomogenat in Abhängigkeit von der Inkubationszeit

Ferkel 8 (6 Tage alt), 1.Lebenswoche:

$y = 148.7 - 0.424 x$; $n = 8$; $r = -0.96$; $p < 0.001$;

Xanthinabbaugeschwindigkeit $v = 8.5 \text{ nmol/min*g Leber}$;

Ferkel 26 (25 Tage alt), 4.Lebenswoche:

$y = 136.0 - 2.001 x$; $n = 8$; $r = -0.93$; $p < 0.001$;

Xanthinabbaugeschwindigkeit $v = 40.0 \text{ nmol/min*g Leber}$;

Tabelle 5 Xanthin-Oxidase-Aktivität im Leberhomogenat in Abhängigkeit vom Alter *

Ferkel nummer	Alter in Tagen	Abbaugeschw. (nmol/min*g)	$\bar{x}$ (nmol/min*g)	SD (nmol/min*g)	n
1	2	10.2			
2	3	28.5			
3	3	17.1			
4	4	13.2			
5	4	5.8	15.8	9.8	8
6	5	10.3			
7	6	32.7			
8	6	8.5			
9	8	15.7			
10	9	21.4			
11	10	43.9			
12	10	58.6			
13	11	43.3	36.8	13.7	8
14	11	36.8			
15	12	42.9			
16	13	31.6			
17	17	28.2			
18	17	15.3			
19	17	32.7			
20	17	40.0			
21	19	30.2	38.0	14.8	8
22	19	42.7			
23	19	51.7			
24	19	62.9			
25	23	36.0			
26	25	40.0			
27	26	-- **			
28	26	-- **	52.4	19.0	4
29	27	77.7			
30	28	56.0			

** Ausreißer

* bei einer Xanthin-Anfangskonzentration von $154.6 \pm 13.1 \mu\text{mol/l}$

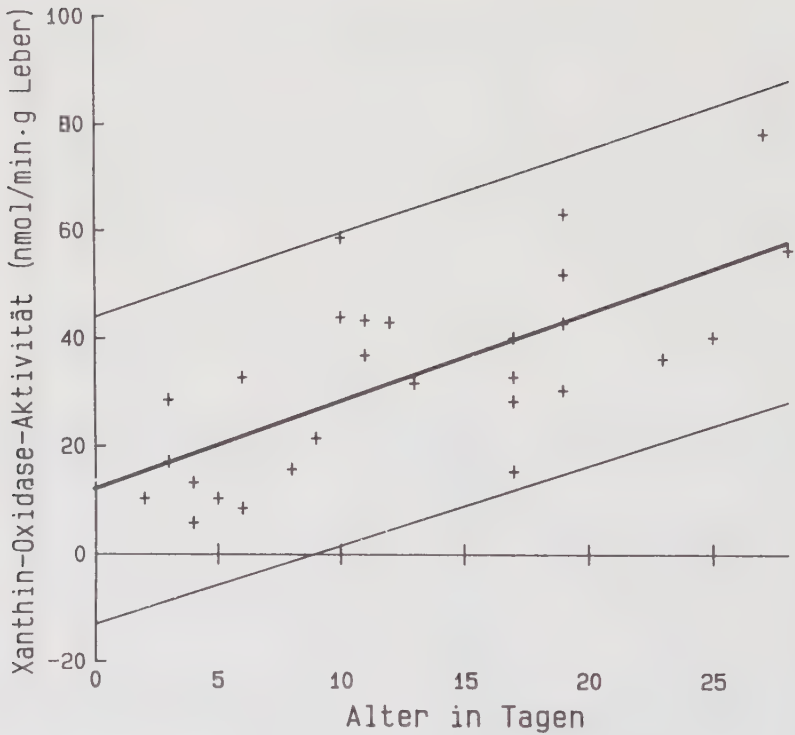


Abbildung 10:

Xanthin-Oxidase-Aktivität im Leberhomogenat in Abhängigkeit vom Alter, bei einer Xanthin-Anfangskonzentration von $154.6 \pm 13.1 \mu\text{mol/l}$

(eingezeichnet der Vertrauensbereich von 95 %)

$y = 1.62 x + 12.28$; $n = 28$; $r = 0.69$; $p < 0.001$;

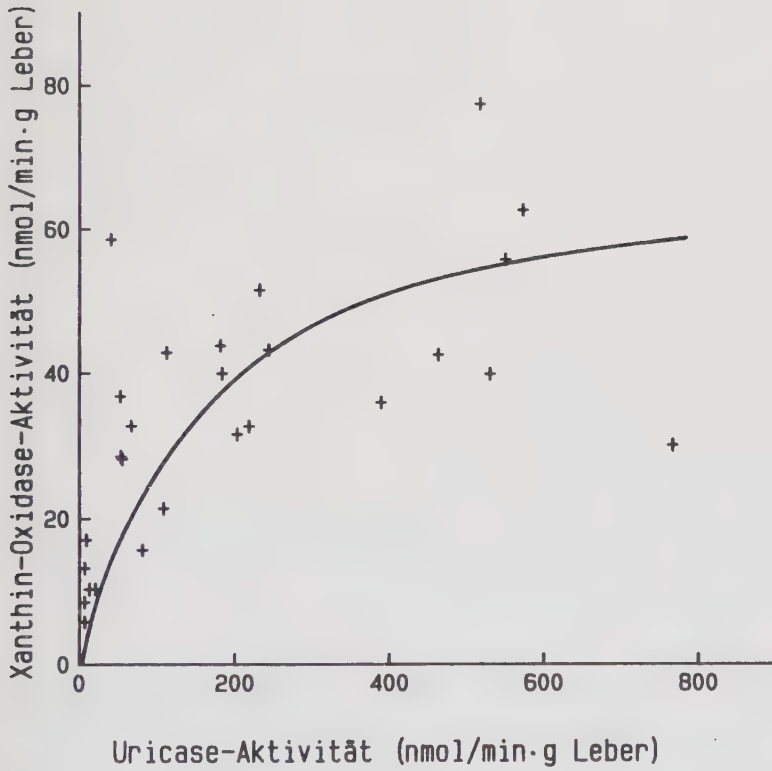


Abbildung 11:

Korrelation zwischen der Uricase-Aktivität und der Xanthin-Oxidase-Aktivität

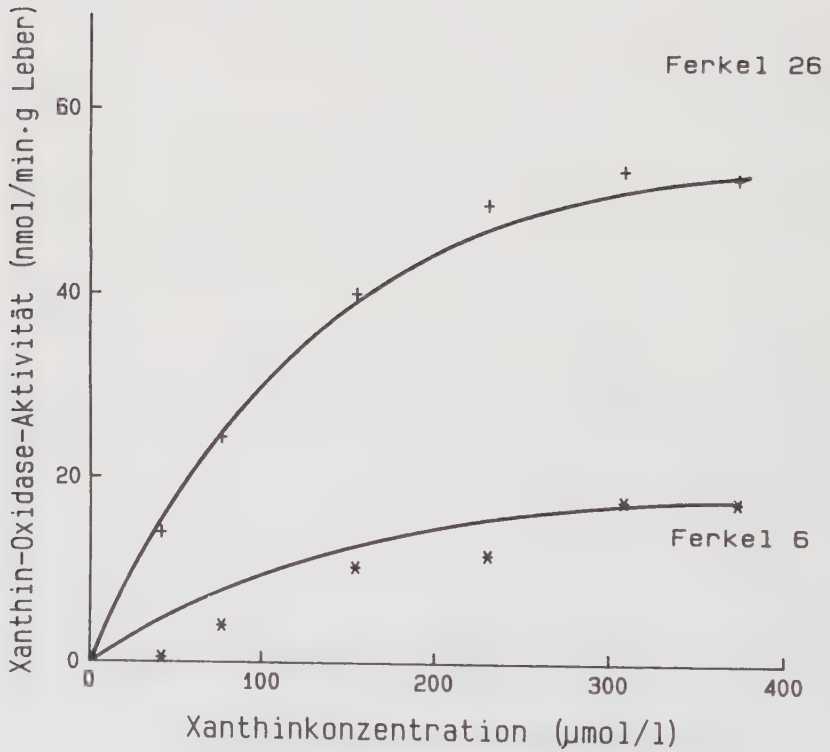


Abbildung 12:

Xanthin-Oxidase-Aktivität in Abhängigkeit von der Anfangskonzentration des Xanthins (Michaelis-Menten-Beziehung)
Ferkel 6 (5 Tage alt), 1.Lebenswoche
(geschätzter Kurvenverlauf);
Ferkel 26 (25 Tage alt), 4.Lebenswoche
(geschätzter Kurvenverlauf);

Tabelle 6.: Xanthin-Oxidase-Aktivität bei verschiedenen Anfangskonzentrationen des Xanthins

Xanthin- konzentration*	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche	
	$\bar{x} \pm SD$ ($\mu\text{mol/l}$)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD$ (n) (nmol/min*g)
41.7 $\pm$ 6.8	5.9 $\pm$ 6.7 (8)	14.8 $\pm$ 6.7 (8)	15.7 $\pm$ 6.1 (8)	13.6 $\pm$ 1.9 (3)				
76.8 $\pm$ 9.2	11.6 $\pm$ 11.6 (8)	21.9 $\pm$ 7.5 (8)	23.8 $\pm$ 6.1 (8)	30.7 $\pm$ 7.2 (4)				
154.6 $\pm$ 13.1	15.8 $\pm$ 9.8 (8)	36.8 $\pm$ 13.7 (8)	38.0 $\pm$ 14.8 (8)	52.4 $\pm$ 19.0 (4)				
230.5 $\pm$ 17.7	19.3 $\pm$ 17.3 (8)	43.2 $\pm$ 21.5 (8)	49.3 $\pm$ 17.9 (8)	51.7 $\pm$ 19.7 (3)				
308.4 $\pm$ 18.4	21.0 $\pm$ 9.4 (8)	45.3 $\pm$ 21.1 (8)	55.9 $\pm$ 22.3 (8)	45.7 $\pm$ 9.0 (4)				
373.5 $\pm$ 20.2	24.2 $\pm$ 21.8 (8)	48.0 $\pm$ 21.4 (8)	52.0 $\pm$ 15.5 (8)	53.7 $\pm$ 11.1 (4)				

* im Ansatz gemessene Anfangskonzentration

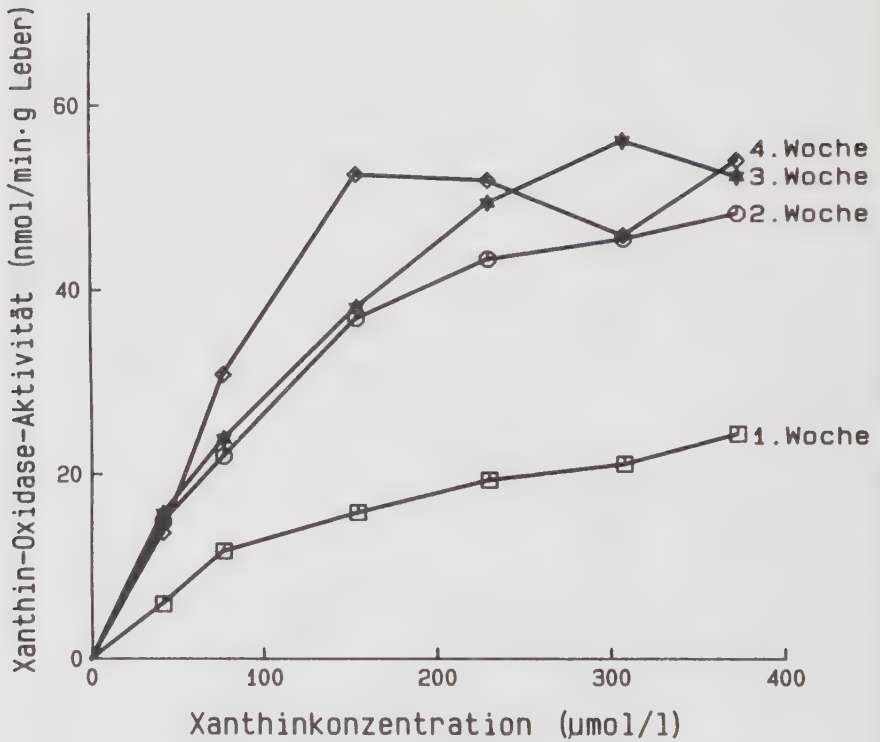


Abbildung 13:

Xanthin-Oxidase-Aktivität in Abhängigkeit von der Xanthin-Anfangskonzentration

Werte siehe Tabelle 6

3.2.2. Konzentrationsabhängigkeit der Xanthin-Oxidase-Aktivität

Auch die Michaelis-Menten-Darstellung der Xanthin-Oxidase-Aktivität verdeutlicht die unterschiedlichen Abbaugeschwindigkeiten bei verschiedenen alten Ferkeln (Abb.12). Bei allen Xanthin-Anfangskonzentrationen weist das Ferkel 26 (25 Tage alt) eine deutlich höhere Xanthin-Oxidase-Aktivität auf als das Ferkel 6 (5 Tage alt), wobei aber auch der Verlauf des jüngeren Ferkels im Gegensatz zur Uricase annähernd einer Sättigungskinetik folgt. Der Vergleich der Wochenmittelwerte (Tab.6, Abb.13) bestätigt, was sich schon in Tabelle 5 andeutete. Der Anstieg der Xanthin-Oxidase-Aktivität von der 1. zur 2. Woche ist bedeutend, die Veränderung zwischen 2., 3. und 4. Woche nur mehr unerheblich. Die geringere Werteanzahl in der 4. Woche ist dadurch bedingt, daß bei höheren Xanthin-Anfangskonzentrationen oft schon eine Substrathemmung eintritt, und deshalb diese Werte aus der Berechnung weggelassen werden müssen.

3.2.3. Charakterisierung der Xanthin-Oxidase-Aktivität

Die Berechnung der Maximalgeschwindigkeit V_{max} und der Michaeliskonstanten K_m erfolgt auch für dieses Enzym anhand der Transformation nach HOFSTEE und nach WILKINSON. Das graphische Beispiel für Ferkel 17 (17 Tage alt) zeigt, analog zur Darstellung bei der Uricase, Abb.14, die Zusammenfassung der Werte enthält Tabelle 7. Da auf Grund zu großer Streuung auch noch ein drittes Ferkel der 4. Lebenswoche (Ferkel 29) aus der Berechnung herausfällt, werden die Wochenmittelwerte der 4. Woche von V_{max} und K_m aus dem Vergleich weggelassen. Es ergibt sich eine signifikante Zunahme der V_{max} von der 1.

zur 2. Woche mit $p < 0.05$. Der Unterschied zwischen 2. und 3. Woche ist deutlich geringer und nicht mehr statistisch abzusichern, ebensowenig wie die Zunahme der Km von der 1. zur 2. und zur 3. Woche. Die Maximalgeschwindigkeit steigt von der 1. zur 3. Woche nur auf das 3 fache.

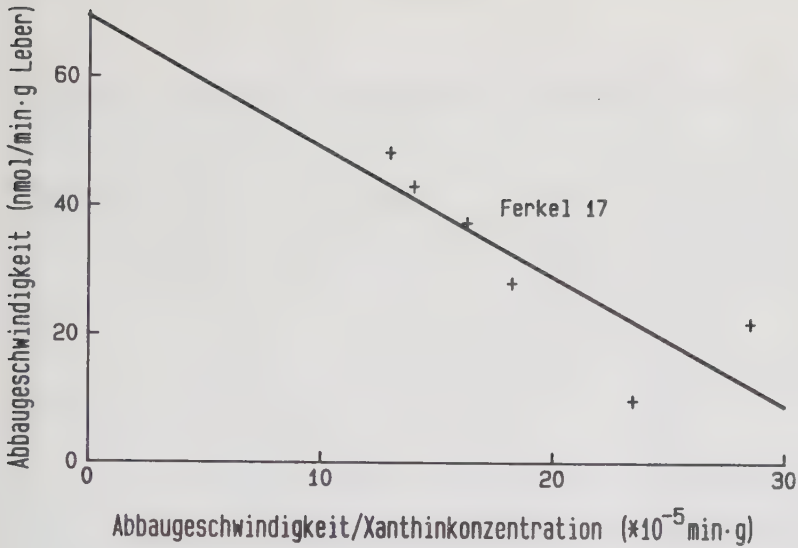


Abb. 14a

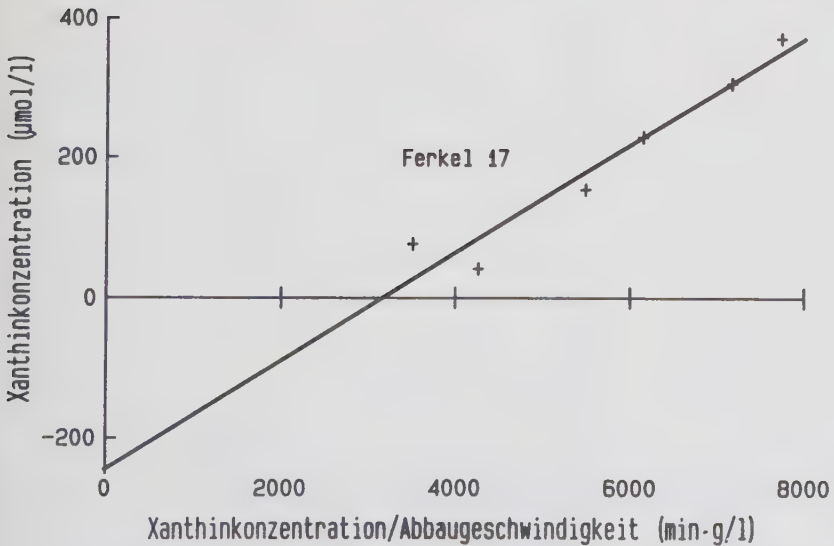


Abb. 14b

Abbildung 14:

Transformation der Michaelis-Menten-Darstellung der Xanthin-Oxidase-Aktivität nach HOFSTEE (Abb. 14a) und nach WILKINSON (Abb. 14b)

Tabelle 7: Maximale Xanthin-Oxidase-Aktivität (Vmax) und Michaeliskonstante (Km), in Abhängigkeit vom Alter

Ferkel nummer	Alter in Tagen	Vmax (nmol/min*g)	$\bar{x} \pm SD(n)$ (nmol/min*g)	Km (μ mol/l)	$\bar{x} \pm SD(n)$ (μ mol/l)
1	2	8.4		45.4	
2	3	38.1		28.4	
3	3	28.2		162.4	
4	4	14.1		5.8	
5	4	--	24.9 $\pm$ 17.8	--	58.1 $\pm$ 54.5
6	5	--	(6)	--	(6)
7	6	52.2		61.8	
8	6	8.4		45.0	
9	8	8.3		11.5	
10	9	60.7		215.6	
11	10	59.1		79.5	
12	10	113.5		163.9	
13	11	53.8	60.7 $\pm$ 34.8	58.4	104.1 $\pm$ 79.8
14	11	35.4	(8)	13.3	(8)
15	12	106.3		198.6	
16	13	48.3		91.7	
17	17	77.3		244.3	
18	17	36.5		108.7	
19	17	66.1		140.5	
20	17	81.0		145.0	
21	19	52.6	74.5 $\pm$ 25.1	140.5	146.5 $\pm$ 50.5
22	19	96.8	(8)	181.2	(8)
23	19	68.5		72.2	
24	19	117.2		139.7	
25	23	47.8		66.5	
26	25	79.5		167.6	
27	26	--		--	
28	26	--	65.6 $\pm$ 16.2	--	86.8 $\pm$ 72.8
29	27	--	(3)	--	(3)
30	28	69.4		26.2	

-- nicht zu berechnende Werte (siehe S. 49)

3.3. ENDPRODUKTE DES PURINSTOFFWECHSELS IM PLASMA

Die Konzentrationen der 4 untersuchten Purinendstoffwechselprodukte Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin im Plasma der ersten 30 Ferkel werden, pro Woche zusammengefaßt, in Tabelle 8 wiedergegeben. Die Summe der Purinmetabolite steigt mit 159.76 $\mu\text{mol/l}$ in der 1. Woche und 183.04 $\mu\text{mol/l}$ in der 4. Woche leicht an. Der leichte Konzentrationsabfall der Harnsäure von der 1. ($30.55 \pm 9.07 \mu\text{mol/l}$) zur 4. Woche ($22.51 \pm 4.90 \mu\text{mol/l}$) ist nicht signifikant. Ebenso kann der geringe Konzentrationsanstieg bei Allantoin von der 1. zur 4. Woche nicht statistisch abgesichert werden. Auch die Hypoxanthin- und Xanthinkonzentrationen im Plasma steigen im Lauf der ersten 4 Lebenswochen leicht und nicht signifikant an, wobei die Hypoxanthinwerte deutlich über den Xanthinwerten liegen. Um die Plasmakonzentrationen mit den Harnkonzentrationen (siehe unten) vergleichen zu können, werden auch die Plasmawerte in % der Gesamtpurinkonzentration (Summe von Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin) umgerechnet und in Tabelle 8 angegeben.

3.4. ENDPRODUKTE DES PURINSTOFFWECHSELS IM HARN

Da die Harnkonzentrierung bei den 30 untersuchten Ferkeln zum Zeitpunkt der Probenentnahme starke Unterschiede aufweist und deshalb die absoluten Konzentrationen der Purinendstoffwechselprodukte zwischen den einzelnen Ferkeln nicht vergleichbar sind, wird die Summe der Hypoxanthin-, Xanthin-, Harnsäure- und Allantoinkonzentrationen zu 100 % der Endausscheidung der gesamten Purinmetabolite zusammengefaßt, für jede der 4 Substanzen der prozentuale Anteil berechnet und dadurch die Werte der 30 Ferkel untereinander vergleichbar gemacht.

Tabelle 9 enthält die Summe der 4 Purinmetabolite in $\mu\text{mol/l}$ und die Mittelwerte der 4 Stoffwechselprodukte im Harn von der 1. bis zur 4. Woche in %. Auch im Harn zeigt sich eine Abnahme der Harnsäurekonzentration und ein Anstieg der Allantoinkonzentration mit zunehmendem Alter (Abb.15a), wobei hier die Veränderungen im Vergleich zum Plasma deutlicher und signifikant sind ($p < 0.01$). Ihre negative Korrelation mit $p < 0.001$ zeigt Abbildung 15b. Bei beiden Substanzen besteht außerdem eine Signifikanz zwischen den Werten der 1. und der 4. Woche von $p < 0.025$.

Vergleicht man die Veränderungen der Konzentrationen von Harnsäure und Allantoin in Plasma und Harn zwischen der 1. und 4. Lebenswoche (beide in % der Summe der 4 Purinmetabolite angegeben), so zeigen sich im Harn sowohl bei der Harnsäure- als auch bei der Allantoinkonzentration stärkere Unterschiede als im Plasma (Abb.16a,b).

Die Hypoxanthinkonzentration steigt, entsprechend den Verhältnissen im Plasma, leicht, aber nicht signifikant an. Die Xanthinkonzentration weist relativ hohe Werte auf und fällt entgegen ihrem Verlauf im Plasma in Abhängigkeit vom Alter ab ($p < 0.01$).

Die großen Schwankungen in der Summe der Purinmetabolite im Harn pro Woche erklären sich durch die oben erwähnten Unterschiede in der Harnkonzentrierung und sind deshalb nicht vergleichbar. Auffallend ist die Zunahme des prozentualen Anteils der 4 Endprodukte des Purinstoffwechsels in der metabolischen Reihenfolge.

Tabelle 8: Konzentrationen von Purinmetaboliten im Plasma

Purin- metabolite	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
	$\bar{x}$	$\pm$	SD	(n)
Summe der Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)	159.76 $\pm$ 26.21 (7)	169.83 $\pm$ 30.48 (8)	195.05 $\pm$ 35.10 (7)	183.04 $\pm$ 35.10 (5)
Hypoxanthin($\mu\text{mol/l}$) (%)	51.42 $\pm$ 25.14 (7) (32.19 $\pm$ 15.74)	56.41 $\pm$ 13.70 (8) (33.22 $\pm$ 8.07)	70.52 $\pm$ 30.00 (7) (36.15 $\pm$ 15.38)	68.68 $\pm$ 25.71 (5) (37.52 $\pm$ 14.05)
Xanthin ($\mu\text{mol/l}$) (%)	10.00 $\pm$ 5.50 (8) (6.26 $\pm$ 3.44)	5.94 $\pm$ 4.00 (8) (6.83 $\pm$ 2.36)	13.32 $\pm$ 13.65 (8) (6.83 $\pm$ 7.00)	15.47 $\pm$ 11.59 (5) (8.45 $\pm$ 6.33)
Harnsäure ($\mu\text{mol/l}$) (%)	30.55 $\pm$ 9.07 (8) (19.12 $\pm$ 5.68)	24.41 $\pm$ 4.85 (8) (14.37 $\pm$ 2.86)	27.78 $\pm$ 13.88 (8) (14.24 $\pm$ 7.12)	22.51 $\pm$ 4.90 (5) (12.30 $\pm$ 2.68)
Allantoin ($\mu\text{mol/l}$) (%)	67.79 $\pm$ 22.34 (8) (42.43 $\pm$ 13.98)	83.07 $\pm$ 31.31 (8) (48.91 $\pm$ 18.44)	83.43 $\pm$ 47.66 (8) (42.77 $\pm$ 24.43)	76.38 $\pm$ 37.69 (5) (41.73 $\pm$ 20.59)

Tabelle 9: Konzentrationen von Purinmetaboliten im Harn

Purin- metabolite	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche
	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$\pm$ (n)	
Summe der Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)	8.23 $\pm$ 7.23 (6)	4.32 $\pm$ 2.62 (8)	7.09 $\pm$ 3.22 (7)	16.19 $\pm$ 10.23 (5)
Hypoxanthin (%)	2.01 $\pm$ 1.50 (6)	2.95 $\pm$ 3.52 (8)	6.91 $\pm$ 7.56 (7)	6.20 $\pm$ 4.53 (5)
Xanthin (%)	18.12 $\pm$ 5.78 (6)	16.88 $\pm$ 5.89 (8)	14.30 $\pm$ 1.64 (7)	9.52 $\pm$ 5.48 (5)
Harnsäure (%)	29.01 $\pm$ 15.23 (6)	12.84 $\pm$ 5.77 (8)	12.12 $\pm$ 3.51 (7)	10.61 $\pm$ 5.06 (5)
Allantoin (%)	50.86 $\pm$ 14.85 (6)	67.34 $\pm$ 5.88 (8)	66.67 $\pm$ 10.57 (7)	73.67 $\pm$ 7.23 (5)

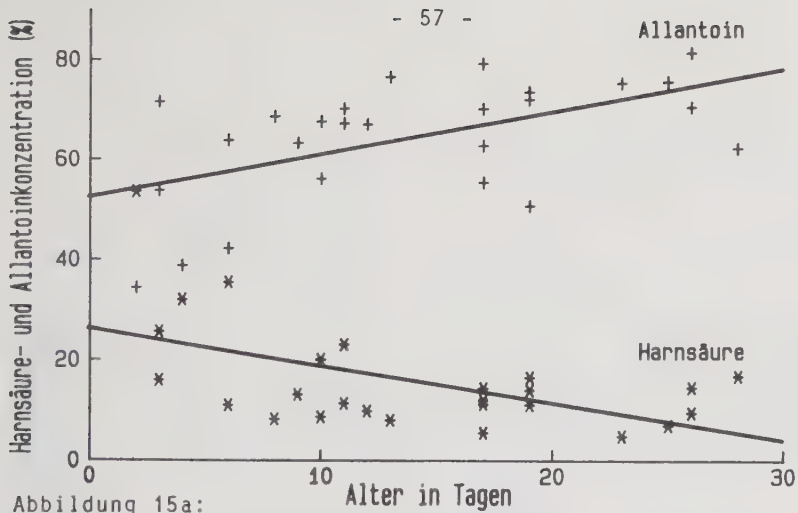


Abbildung 15a:

Konzentrationen von Harnsäure und Allantoin im Harn in Abhängigkeit vom Alter

Harnsäure: $y = 26.17 - 0.74 x$; $n = 26$; $r = -0.53$; $p < 0.01$;

Allantoin: $y = 52.34 + 0.88 x$; $n = 26$; $r = 0.55$; $p < 0.01$;

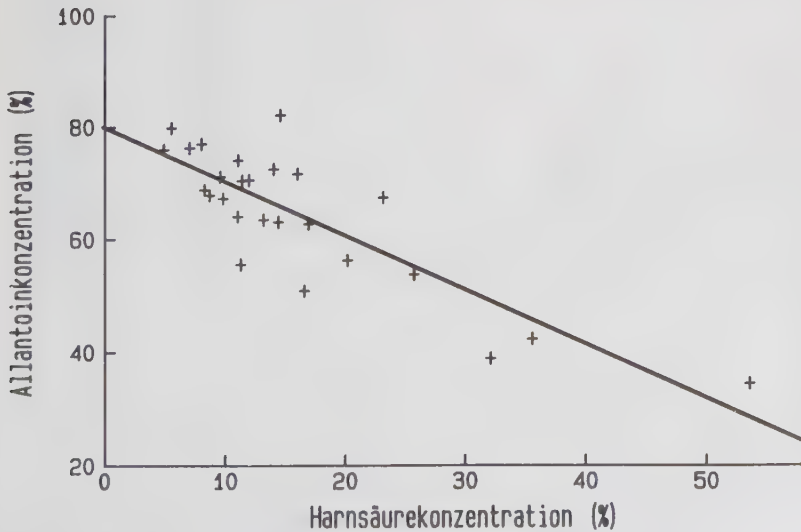


Abbildung 15b:

Korrelation zwischen den Konzentrationen von Harnsäure und Allantoin im Harn in den ersten 4 Lebenswochen

$y = 79.92 - 0.96 x$; $n = 26$; $r = -0.84$; $p < 0.001$;

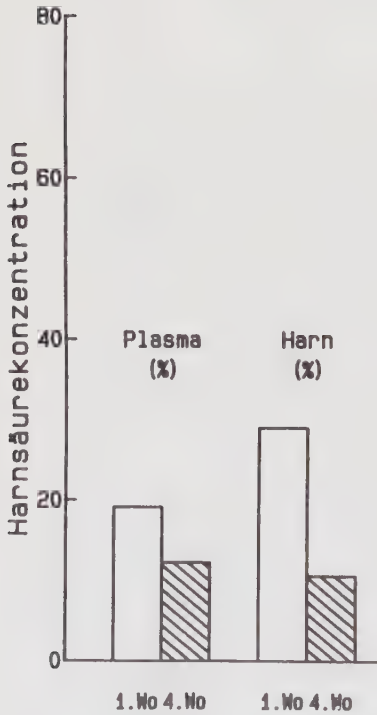


Abbildung 16a:

Harnsäurekonzentration
(in %) in Plasma und Harn
in der 1. und 4. Lebens-
woche

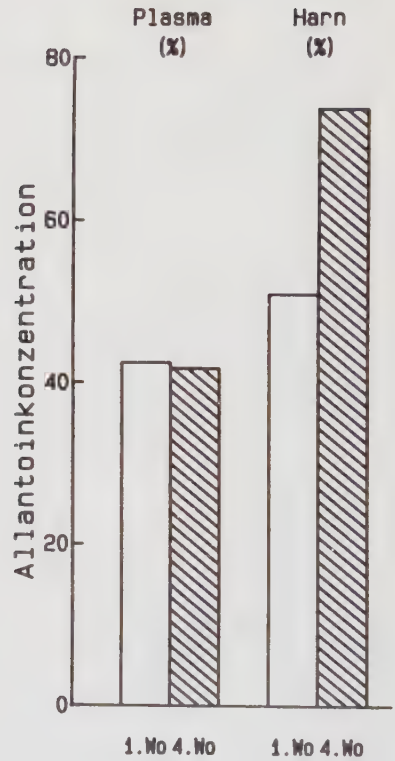


Abbildung 16b:

Allantoinkonzentration
(in %) in Plasma und Harn
in der 1. und 4. Lebens-
woche

3.5. EINFLUSS VON HYPOTHERMIE UND PHLORICINBEHANDLUNG AUF DIE KONZENTRATIONEN VON PURINMETABOLITEN UND GLUCOSE IM PLASMA

In den ersten 4 Versuchen in vivo sollte der Einfluß einer hypothermischen Belastung bzw. einer Hypoglykämie auf den Purinendstoffwechsel untersucht werden. Dazu wurden die Ferkel z.T. einer Umgebungstemperatur von 20°C ausgesetzt, z.T. mit Phloricin behandelt. Die Ergebnisse der jeweils 4 Tage dauernden Blutkontrollen (ca.10 Blutproben pro Ferkel) sind in den Tabellen 10 - 13 enthalten.

Der erwartete Harnsäureanstieg im Plasma der behandelten Tiere bleibt aus. Die Mittelwerte der Plasmaharnsäure bei Hypothermieferkeln ($27.1 \pm 17.8 \mu\text{mol/l}$) und Hypoglykämieferkeln ($25.0 \pm 16.7 \mu\text{mol/l}$) liegen beide im Bereich der Kontrollgruppe ($28.7 \pm 20.2 \mu\text{mol/l}$). Bei der Hypothermiebehandlung zeigt sich zwar bei Hypoxanthin und Xanthin ein leichter Anstieg im Vergleich zur Kontrollgruppe, jedoch ist dieser auf Grund der geringen Tierzahl bzw. der relativ großen Streuung nicht statistisch abzusichern. Bei der Hypoglykämiegruppe ist keine Veränderung im Vergleich zur Kontrolle festzustellen. Auch die Glucosekonzentration im Plasma der drei Ferkelgruppen weist keine wesentlichen Unterschiede auf. Die Mittelwerte der Hypoglykämieferkel ($5.28 \pm 1.07 \mu\text{mol/l}$) und der Hypothermieferkel ($5.30 \pm 1.33 \mu\text{mol/l}$) liegen zwar etwas niedriger als der Wert der Kontrollgruppe ($5.62 \pm 1.38 \mu\text{mol/l}$), jedoch sind die Differenzen sehr klein und auf Grund der geringen Probenzahl ist keine Signifikanz zu berechnen.

Tabelle 10: Mittlere Hypoxanthinkonzentration im Plasma während des 2.-5. Tages p.n. bei verschiedenen Behandlungen

		Hypoxanthinkonzentration ($\mu\text{mol/l}$)				
Behandlung	Ferkel nummer	$\bar{x}$	SD	n*	Gesamtmittelwert: $\bar{x} \pm \text{SD}$ (n**)	
Kontrolle	31	38.2	15.4	10	34.9 $\pm$ 14.7 (40)	
	32	33.8	16.9	10		
	33	38.9	16.2	10		
	34	28.7	10.3	10		
Hypothermie	35	41.9	8.8	10	44.2 $\pm$ 11.0 (40)	
	36	51.9	14.0	10		
	37	38.9	9.6	10		
	38	44.1	11.8	10		
Hypoglykämie	39	35.3	12.5	10	32.2 $\pm$ 14.0 (38)	
	40	35.3	18.4	9		
	41	33.8	8.8	10		
	42	24.2	14.0	9		

* Probenanzahl pro Ferkel

** Probenanzahl pro Ferkelgruppe

Tabelle 11: Mittlere Xanthinkonzentration im Plasma während des 2.-5. Tages p.n. bei verschiedenen Behandlungen

		Xanthinkonzentration ($\mu\text{mol/l}$)				
Behandlung	Ferkelnummer	$\bar{x}$	SD	n*	Gesamtmittelwert:	$\bar{x} \pm \text{SD}$ (n**)
Kontrolle	31	2.6	2.6	10	3.5 $\pm$ 3.3	(38)
	32	2.6	2.0	10		
	33	6.6	5.3	9		
	34	2.0	2.0	9		
Hypothermie	35	3.9	3.3	10	4.6 $\pm$ 4.6	(39)
	36	3.3	3.9	10		
	37	3.9	2.0	10		
	38	7.2	7.9	9		
Hypoglykämie	39	2.0	1.3	10	3.6 $\pm$ 4.6	(37)
	40	3.9	5.9	9		
	41	4.6	2.6	10		
	42	3.9	5.9	8		

* Probenanzahl pro Ferkel

** Probenanzahl pro Ferkelgruppe

Tabelle 12: Mittlere Harnsäurekonzentration im Plasma während des 2.-5. Tages p.n. bei verschiedenen Behandlungen

		Harnsäurekonzentration ($\mu\text{mol/l}$)				Gesamtmittelwert: $\bar{x} \pm \text{SD}$ (n**)
Behandlung	Ferkelnummer	$\bar{x}$	SD	n*		
Kontrolle	31	52.3	22.6	10		28.7 ± 20.2 (40)
	32	28.6	11.3	10		
	33	14.9	9.5	10		
	34	19.0	12.5	10		
Hypothermie	35	36.9	17.8	10		27.1 ± 17.8 (40)
	36	32.7	20.8	10		
	37	13.1	4.2	10		
	38	25.8	16.1	10		
Hypoglykämie	39	29.1	16.1	10		25.0 ± 16.7 (38)
	40	33.9	22.6	9		
	41	16.1	8.3	10		
	42	20.8	14.3	9		

* Probenanzahl pro Ferkel

** Probenanzahl pro Ferkelgruppe

Tabelle 13: Mittlere Glucosekonzentration im Plasma während des 2.-5. Tages p.n. bei verschiedenen Behandlungen

		Glucosekonzentration ($\mu\text{mol/l}$)			
Behandlung	Ferkelnummer	$\bar{x}$	SD	n*	Gesamtmittelwert: $\bar{x} \pm \text{SD}$ (n**)
Kontrolle	31	4.96	1.29	9	5.62 $\pm$ 1.38 (36)
	32	5.91	1.21	9	
	33	6.51	0.98	10	
	34	5.10	1.63	8	
Hypothermie	35	4.68	1.06	9	5.30 $\pm$ 1.33 (36)
	36	5.47	1.79	9	
	37	5.34	1.09	10	
	38	5.71	1.28	8	
Hypoglykämie	39	4.56	0.64	9	5.28 $\pm$ 1.07 (34)
	40	5.19	0.50	8	
	41	5.58	1.36	10	
	42	5.77	1.19	7	

* Probenanzahl pro Ferkel

** Probenanzahl pro Ferkelgruppe

3.6. STOFFWECHSELKINETIK VON HYPOXANTHIN UND HARNSÄURE BEI HYPOTHERMIE

In den Radioisotopen-Verdünnungsversuchen sollte mit Hilfe von radioaktiv-markierter Harnsäure und radioaktiv-markiertem Hypoxanthin ein besserer Einblick in die Stoffwechselvorgänge von Harnsäure und Hypoxanthin erreicht werden. Um für diese beiden Purinmetabolite den frei verfügbaren Pool und die Umsatzrate (Turnover) bestimmen zu können, wurde zuerst der Abfall der spezifischen Radioaktivität (angegeben in Prozent der injizierten Radioaktivitätsdosis) im Plasma in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion gemessen. Sowohl bei ^{14}C -Harnsäure als auch bei ^3H -Hypoxanthin zeigt sich bei Hypothermietieren eine wesentlich schnellere Abnahme als bei Kontrollferkeln (Abb.17a, 18a). Die Abbildungen 17 und 18 stellen den Verlauf eines Tieres aus der Kontrollgruppe einem Ferkel aus der Hypothermiegruppe gegenüber. Bei beiden Substanzen beginnt die Kurve der Hypothermietiere 2 min nach der Injektion bei niedrigeren Werten als die der Kontrollferkel. Dies weist auf einen größeren Verteilungsraum für Harnsäure und Hypoxanthin unter Hypothermiebedingungen hin. Die halblogarithmische Auftragung dieser Radioaktivitätsabnahme folgt nur bei ^3H -Hypoxanthin von Anfang an einem linearen Verlauf. Bei ^{14}C -Harnsäure dauert es 10 - 20 Minuten, bis sich diese Linearität abzeichnet (Abb.17b, 18b).

Die aus diesen Kurven berechneten Turnoverraten und Poolgrößen weisen entsprechend dem Verhalten im Abfall der spezifischen Radioaktivität deutliche Unterschiede zwischen den beiden Ferkelgruppen auf: Der Harnsäure-Turnover liegt mit $15.63 \pm 5.09 \mu\text{mol/h*kg KGW}$ bei den Hypothermieferkeln signifikant höher ($p < 0.05$) als bei Kontrolltieren mit $9.73 \pm 5.44 \mu\text{mol/h*kg KGW}$ (Tab.14). Der Unterschied beim frei verfügbaren Harnsäure-Pool ist mit $10.40 \pm 9.04 \mu\text{mol/kg KGW}$ bei Hypothermiebehandlung und $2.66 \pm 2.71 \mu\text{mol/kg KGW}$ bei

der Kontrolle sogar mit $p < 0.01$ statistisch abgesichert (Tab.15). Die Unterschiede beim Hypoxanthin-Turnover (Tab.16) und Hypoxanthin-Pool (Tab.17) fallen geringer aus und sind nicht signifikant.

Der Anstieg der spezifischen Radioaktivität von ^3H -Allantoin (angegeben in Prozent der Radioaktivität der injizierten ^3H -Hypoxanthin-Dosis) ist im untersuchten Zeitraum bei Hypothermieferkeln geringer und langsamer als bei Kontrollferkeln (Abb.19) und läßt auf eine verminderte Allantoinbildung bei Hypothermietieren im Vergleich zu Kontrolltieren schließen. Dies bestätigt auch der Hypoxanthin-Transfer zu Allantoin, also die Menge radioaktiv-markierten Hypoxanthins, die innerhalb der ersten 2 Stunden nach der Injektion zu radioaktiv-markiertem Allantoin umgesetzt wird. Hier weisen Kontrollferkel mit $50.11 \pm 30.44 \%$ einen signifikant höheren Wert auf ($p < 0.05$), als Hypothermietiere mit $24.44 \pm 12.62 \%$ (Tab.18). Das Verhältnis von radioaktiv-markiertem Allantoin zu radioaktiv-markierter Harnsäure, das in der injizierten Stammlösung bei 0.033 liegt, steigt im Plasma 2 Stunden nach der Injektion bei der Kontrolle auf das 20.94 fache, bei Hypothermiebehandlung dagegen nur auf das 5.76 fache an (Tab.19). Der Unterschied im Harn 4 Stunden nach der Injektion fällt etwas geringer aus: Ein Anstieg auf das 15.58 fache bei Kontrolltieren bzw. auf das 7.29 fache bei Hypothermieferkeln (Tab.20). Also war auch hier in beiden Fällen die Allantoinbildung bei Hypothermiebehandlung im Vergleich zur Kontrolle vermindert.

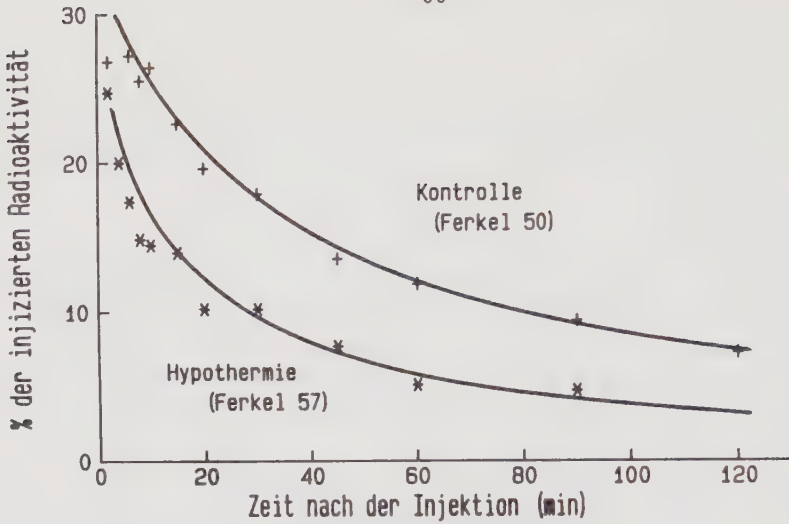


Abb. 17a

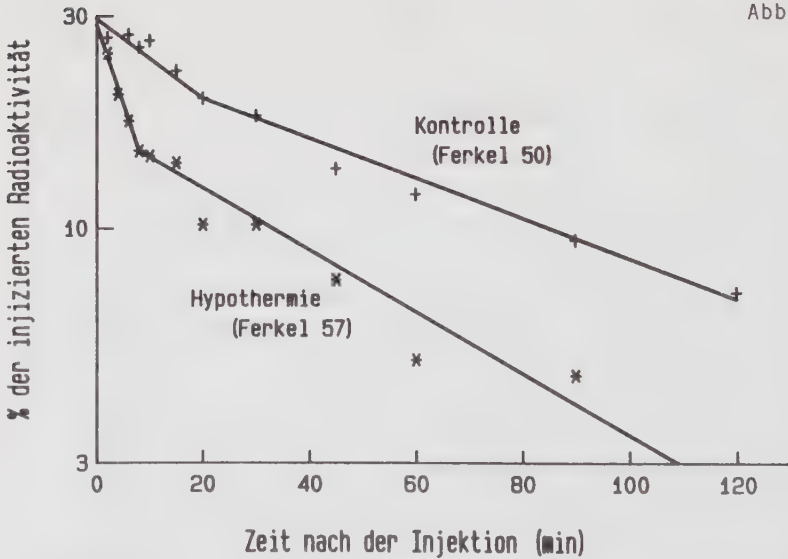


Abb. 17b

Abbildung 17:

Abfall der spezifischen Radioaktivität (in % der injizierten Radioaktivitätsdosis) von ^{14}C -Harnsäure bei Kontroll- und Hypothermiebehandlung

Abb. 17a: geschätzter Kurvenverlauf

Abb. 17b: halblogarithmische Darstellung

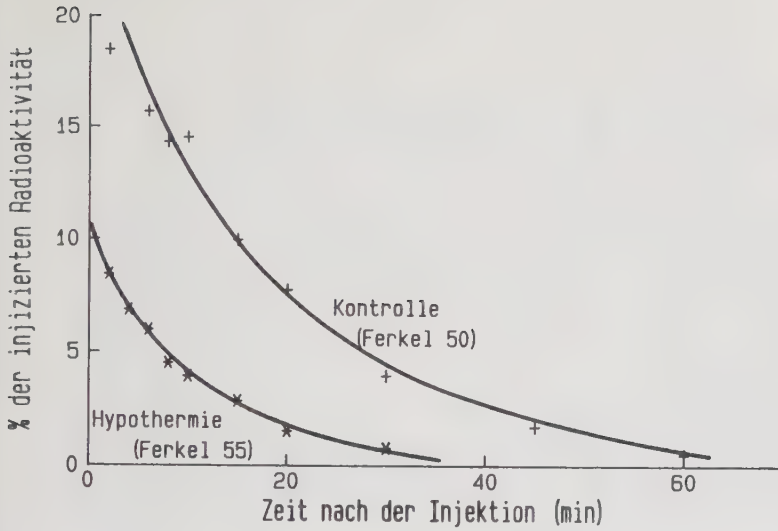


Abb.18a

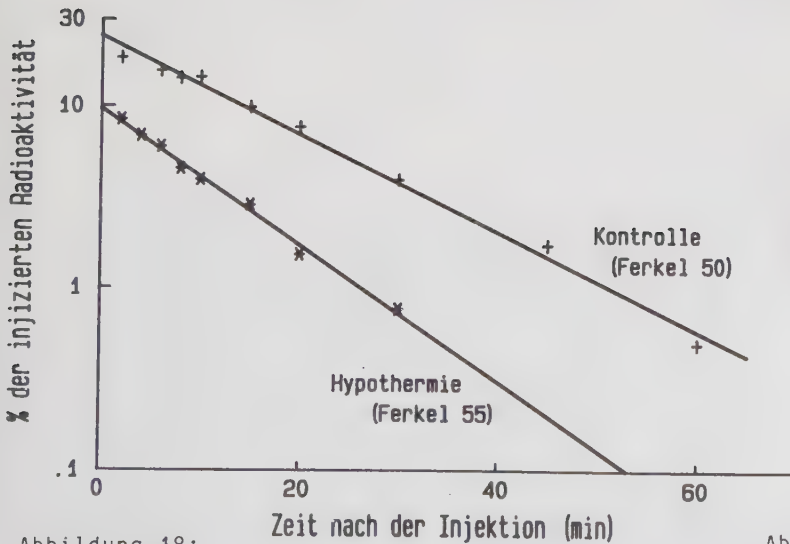


Abb.18b

Abbildung 18:

Abfall der spezifischen Radioaktivität (in % der injizierten Radioaktivitätsdosis) von ^3H -Hypoxanthin bei Kontroll- und Hypothermiebehandlung

Abb.18a: geschätzter Kurvenverlauf

Abb.18b: halblogarithmische Darstellung

Tabelle 14: Harnsäure-Turnover ($\mu\text{mol/h}\cdot\text{kg}$)
bei Kontroll- und Hypothermiebe-
handlung

Turnover ($\mu\text{mol/h}\cdot\text{kg}$)	
Kontrolle Ferkelnr.	Hypothermie Ferkelnr.
43 6.68	51 16.06
44 9.48	52 --- **
45 15.08	53 14.92
46 6.31	54 8.99
47 --- **	55 19.51
48 3.59	56 21.25
49 7.95	57 19.84
50 19.05	58 8.81
$\bar{x}\pm\text{SD}$ 9.73 $\pm$ 5.44	$\bar{x}\pm\text{SD}$ 15.63 $\pm$ 5.09
Signifikanz: p < 0.05	

Tabelle 15: frei verfügbarer Harnsäure-Pool
($\mu\text{mol/kg KGW}$) bei Kontroll- und
Hypothermiebehandlung

Pool ($\mu\text{mol/kg}$)	
Kontrolle Ferkelnr.	Hypothermie Ferkelnr.
43 0.53	51 3.92
44 7.65	52 --- **
45 5.18	53 8.23
46 1.27	54 3.36
47 --- **	55 2.42
48 0.85	56 16.64
49 0.88	57 10.73
50 2.28	58 27.48
$\bar{x}\pm\text{SD}$ 2.66 $\pm$ 2.71	$\bar{x}\pm\text{SD}$ 10.40 $\pm$ 9.04
Signifikanz: p < 0.01	
** Ausreißer	

Tabelle 16: Hypoxanthin-Turnover ($\mu\text{mol/h}\cdot\text{kg}$)
bei Kontroll- und Hypothermiebe-
handlung

Turnover ($\mu\text{mol/h}\cdot\text{kg}$)		
Ferkelnr.	Kontrolle	Hypothermie Ferkelnr.
45	108.94	53 80.09
46	124.61	54 117.87
47	66.13	55 162.34
48	159.64	56 116.75
49	131.42	57 100.87
50	85.39	58 164.79
$\bar{x} \pm \text{SD}$	112.69 $\pm$ 33.54	$\bar{x} \pm \text{SD}$ 123.79 $\pm$ 33.72

Tabelle 17: frei verfügbarer Hypoxanthin-Pool
($\mu\text{mol/kg KGW}$) bei Kontroll- und
Hypothermiebehandlung

Pool ($\mu\text{mol/kg}$)		
Ferkelnr.	Kontrolle	Hypothermie Ferkelnr.
45	14.63	53 11.42
46	43.07	54 50.27
47	2.22	55 27.97
48	9.60	56 6.18
49	63.00	57 63.32
50	2.99	58 23.28
$\bar{x} \pm \text{SD}$	22.59 $\pm$ 24.83	$\bar{x} \pm \text{SD}$ 30.41 $\pm$ 22.28

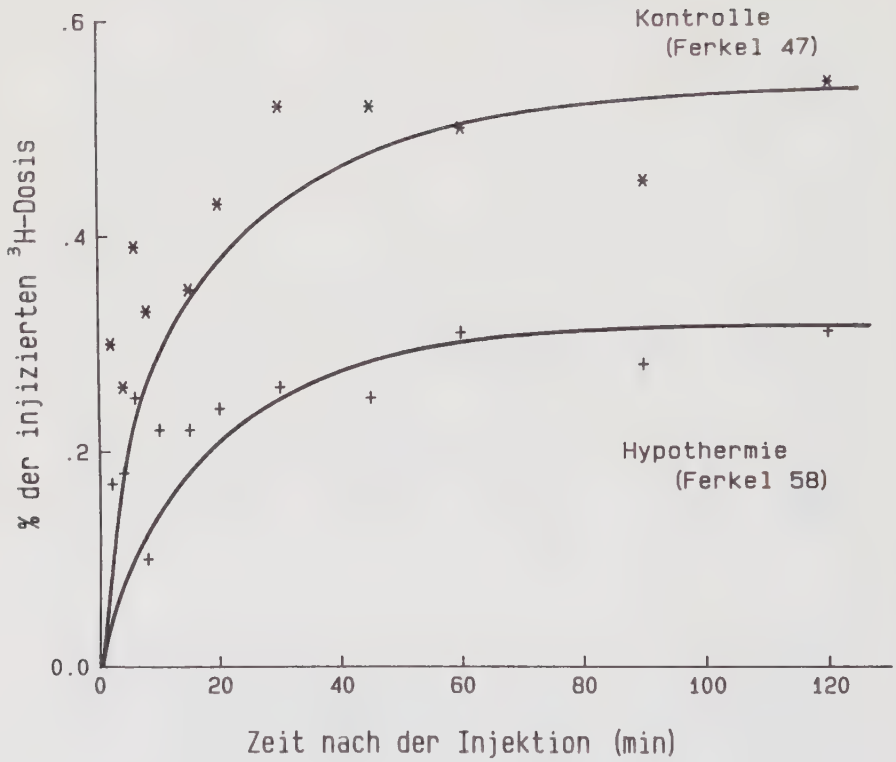


Abbildung 19:

Anstieg der spezifischen Radioaktivität von ^3H -Allantoin im Plasma (in % der Radioaktivität der injizierten ^3H -Hypoxanthin-Dosis) bei Kontroll- und Hypothermiebehandlung (geschätzter Kurvenverlauf)

Tabelle 18: Hypoxanthin-Transfer zu Allantoin * innerhalb von 2 Stunden nach der Injektion

Hypoxanthin - Transfer (%)			
Kontrolle		Hypothermie	
Ferkelnr.		Ferkelnr.	
45	25.55	52	13.93
46	36.43	53	22.40
47	36.35	54	21.64
48	27.05	55	46.67
49	100.00	56	29.83
50	75.27	57	12.19
$\bar{x} \pm SD$	50.11 $\pm$ 30.44	$\bar{x} \pm SD$	24.44 $\pm$ 12.62
Signifikanz:		p < 0.05	

* Übergang radioaktiv-markierten Hypoxanthins in radioaktiv-markiertes Allantoin in %

Tabelle 19: Zunahme von radioaktiv-markiertem Allantoin im Plasma innerhalb von 2 Stunden nach der Injektion

Zunahme des Verhältnisses Allantoin : Harnsäure			
Ferkelnr.	Kontrolle	Hypothermie Ferkelnr.	
45	7.16	53	3.45
46	50.55	54	4.62
47	23.91	55	---*
48	28.21	56	9.83
49	10.91	57	5.67
50	4.88	58	5.24
$\bar{x} \pm SD$	20.94 $\pm$ 17.24	$\bar{x} \pm SD$	5.76 $\pm$ 2.42

Tabelle 20: Zunahme von radioaktiv-markiertem Allantoin im Harn innerhalb von 4 Stunden nach der Injektion

Zunahme des Verhältnisses Allantoin : Harnsäure			
Ferkelnr.	Kontrolle	Hypothermie Ferkelnr.	
45	10.07	53	5.22
46	20.95	54	11.67
47	5.39	55	13.00
48	8.26	56	4.96
49	33.24	57	6.36
50	--- *	58	2.55
$\bar{x} \pm SD$	15.58 $\pm$ 11.49	$\bar{x} \pm SD$	7.29 $\pm$ 4.12

* Ausreißer

4. DISKUSSION

Unsere Untersuchungen konnten die qualitative Aussage in der Literatur, daß Ferkel in den ersten Lebenstagen eine im Vergleich zu älteren Tieren geringe Uricase-Aktivität aufweisen, bestätigen und quantifizieren. In den ersten 4 Wochen nach der Geburt nimmt die Aktivität stetig zu. Die großen individuellen Unterschiede in der 1. Woche sind durch eine noch hohe Labilität des Enzyms in diesem Zeitraum bedingt und verhindern sogar manchmal eine Berechnung der kinetischen Parameter. Die Maximalgeschwindigkeit V_{max} steigt von der 1. zur 4. Woche auf das 11 fache an und erreicht mit $1.03 \pm 0.49 \mu\text{mol/min} \cdot \text{g Leber}$ den Wert erwachsener Schweine ($1.04 \pm 0.24 \mu\text{mol/min} \cdot \text{g Leber}$; FENN, 1985). Der Wert der Michaeliskonstanten K_m in der 4. Woche ($258.6 \pm 139.5 \mu\text{mol/l}$) liegt zwar über dem von FENN (1985) für erwachsene Schweine ermittelten Wert ($110.5 \pm 71.2 \mu\text{mol/l}$), doch reichen die Literaturangaben über die K_m für gereinigte Uricase aus der Schweineleber von $50 \mu\text{mol/l}$ (BAUM et al., 1956; FRIDOVICH, 1965) bis $500 \mu\text{mol/l}$ (PITTS & PRIEST, 1973) und sind bei jeder Untersuchung von einer großen Streuung begleitet.

Die Uricase braucht demnach mit 4 Wochen wesentlich länger für ihre Entwicklung als andere Leberenzyme beim Ferkel, wie z.B. die Glucose-6-Phosphatase, die Fructose-1,6-Diphosphatase und die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase der Gluconeogenese, die ihr Maximum schon 5 Tage nach der Geburt erreichen (BIEBER et al., 1979). Doch ist diese lange Entwicklungsdauer der Uricase keine Besonderheit der Ferkel. Auch in der Rattenleber wird die maximale Uricase-Aktivität erst Wochen nach der Geburt erreicht (TSUKADA et al., 1968; KRAHLING et al., 1979). Bei dieser Spezies ist die Uricase aber, im Gegensatz zum Ferkel (MENDEL & MITCHELL, 1907),

schon vor der Geburt, nämlich vom 18.Tag der Gravidität an, nachweisbar (TSUKADA et al.,1968). Auch die Anzahl der Peroxisomen und der Cores bei der Geburt liegt in der Rattenleber deutlich höher als in der Ferkelleber (LAGING,1985). Die Tatsache, daß zum Zeitpunkt der Geburt schon Peroxisomen-Cores in den Hepatozyten der Ferkelleber gefunden werden, jedoch noch keine Uricase-Aktivität vorhanden ist, bekräftigt die Meinung von DE DUVE & BAUDHUIN (1966) und HAYASHI et al.(1976), daß das Core nicht ausschließlich aus kristalliner Uricase besteht.

Auch die Xanthin-Oxidase besitzt bei der Geburt noch nicht ihre maximale Aktivität. Ihre Zunahme in den ersten Wochen nach der Geburt ist jedoch wesentlich geringer als die der Uricase. Die Maximalgeschwindigkeit liegt in der 3. Woche nur beim 3 fachen Wert im Vergleich zur 1. Woche. Die größte Entwicklung findet in den ersten 2 Lebenswochen statt, danach sind die Veränderungen nur mehr gering. Angaben über Vmax und Km bei erwachsenen Schweinen liegen zum Vergleich nicht vor. Im Gegensatz zur Uricase ist die Xanthin-Oxidase bei der Geburt schon vorhanden und zeigt auch in den ersten Lebenstagen eine weit geringere Streuung und Labilität; trotzdem liegen die Aktivitätswerte der Xanthin-Oxidase in der 1. Woche post natum niedriger als die der Uricase (24.9 ± 17.8 nmol/min * g Leber bzw. 93.4 ± 135.6 nmol/min * g Leber). Diese Differenz wird nach 3-4 Wochen noch wesentlich deutlicher (74.5 ± 25.1 nmol/min * g Leber bzw. 1030.9 ± 468.3 nmol/min * g Leber). Berücksichtigt man die Tatsache, daß die Uricase beim Schwein auf die Leber beschränkt (FENN,1985), die Xanthin-Oxidase jedoch in fast allen Geweben zu finden ist (KRENITZKY et al.,1974;HASHIMOTO,1974), so erklärt sich der große Aktivitätsunterschied in der Leber. Die Uricase muß nicht nur die Harnsäure, die durch die Xanthin-Oxidase-Aktivität in der Leber anfällt, oxidieren, sondern auch die gesamte Harnsäure, die auf dem Blutweg aus anderen Organen und Geweben antransportiert wird. Deshalb

ist es nötig, daß die Uricase-Aktivität in der Leber weit über der Xanthin-Oxidase-Aktivität der Leber liegt. Bei Ferkeln ab der 4.Lebenswoche ist dies auch der Fall: Die Uricase-Aktivität beträgt das 14 fache der Xanthin-Oxidase-Aktivität, in der 1.Lebenswoche jedoch nur das 4 fache. Durch diesen geringen Unterschied in den ersten Lebenstagen könnte es unter Umständen zu der Situation kommen, daß die Uricase-Aktivität für die Harnsäure aus der Leber noch ausreicht, aber die anflutende Harnsäure aus anderen Geweben die Uricase überfordert und es zu einem Harnsäureanstieg im Plasma kommt.

Die Harnsäurekonzentration im Plasma junger Saugferkel in den ersten Lebenswochen (20 - 30 $\mu\text{mol/l}$; Tab.21) liegt im Gegensatz zu adulten Schweinen in dem Bereich, der für Säugetiere allgemein angegeben wird, nämlich 10 - 100 $\mu\text{mol/l}$ (LANG,1981). Das erwachsene Schwein besitzt mit 3 $\mu\text{mol/l}$ (ROCH-RAMEL et al.,1980) den geringsten Harnsäurespiegel aller bisher untersuchten Säugetiere und stellt damit das Gegenstück zum Menschen dar, der auf Grund des Uricaseverlustes mit 260 - 360 $\mu\text{mol/l}$ (GRIEBSCHE & ZÖLLNER,1973) weit über dem Bereich der Säugetiere liegt.

Die Allantoinkonzentration im Plasma junger Ferkel (65 - 85 $\mu\text{mol/l}$; Tab.21) differiert nicht zu Werten adulter Schweine (50 - 100 $\mu\text{mol/l}$; HORNAWSKY & MÜLLER,1980) und ist auch mit den Angaben über adulte Hunde (Beagle 100 $\mu\text{mol/l}$; Dalmatiner 50 $\mu\text{mol/l}$; GALLENMÜLLER,1983) und über Neuweltaffen (65 - 85 $\mu\text{mol/l}$; SCHREIBER,1984) vergleichbar. Der Mensch liegt mit 2 - 3 $\mu\text{mol/l}$ (SCHREIBER,1984) dagegen weit unter diesem Bereich.

Die Hypoxanthinkonzentration liegt bei Ferkeln in den ersten Lebenswochen mit 50 - 70 $\mu\text{mol/l}$ (Tab.21) im Vergleich zu adulten Schweinen (22 $\mu\text{mol/l}$; FENN,1985) und zum Menschen (26 $\mu\text{mol/l}$; SCHREIBER,1984) deutlich höher. Die Xanthinspiegel dagegen weisen keine großen Unterschiede auf: 5 - 15 $\mu\text{mol/l}$ beim Ferkel (Tab.21), 5 $\mu\text{mol/l}$ beim erwachsenen Schwein (FENN,1985) und 9 $\mu\text{mol/l}$ beim Menschen (SCHREIBER,1984).

Tabelle 21: Vergleich der Purinmetabolite Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin im Plasma junger Saugferkel, adulter Schweine und des Menschen (in $\mu\text{mol/l}$)

	Saugferkel	ad.Schweine	Mensch
Hypoxanthin	50-70	22*	26 ⁺
Xanthin	5-15	5*	9 ⁺
Harnsäure	20-30	3 ⁰	260-360 ^x
Allantoin	65-85	50-100 ⁰	2-3 ⁺

* FENN,1985; ⁰ HORNAWSKY & MÜLLER,1980; ⁺ SCHREIBER,1984;

^x GRIEBSCH & ZÖLLNER,1973;

Vergleicht man die prozentualen Anteile von Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin an der Endausscheidung der Purinmetabolite im Harn (Tab.22), so weisen sowohl Hypoxanthin als auch Xanthin und Harnsäure beim 4 Wochen alten Ferkel etwas höhere Werte auf als beim erwachsenen Schwein. Der Allantoinanteil liegt dagegen bei den adulten Tieren etwas höher.

Tabelle 22: Hypoxanthin-, Xanthin-, Harnsäure- und Allantoinkonzentrationen im Harn (in %)

	Saugferkel	ad.Schwein*
Hypoxanthin	6.2	2.5
Xanthin	9.5	4.2
Harnsäure	10.6	9.2
Allantoin	73.7	84.0

* SIMMONDS et al., 1973a

Auf Grund der oben beschriebenen Enzymentwicklungen in den ersten Lebenswochen wäre eine Veränderung der Blutkonzentrationen von Harnsäure und Allantoin in diesem Zeitraum zu erwarten gewesen. Das durch die Zunahme der Uricase-Aktivität erwartete Absinken des Harnsäurespiegels im Lauf der ersten 4 Wochen kann durch die ebenfalls erhöhte Xanthin-Oxidase-Aktivität nur zu einem geringen Teil kompensiert werden; und auch die Allantoinkonzentration müßte deutlich ansteigen. Doch die Ergebnisse der Plasmaanalysen zeigen, daß diese Veränderungen nur angedeutet werden und weit unter den erwarteten Werten liegen. Im Harn dagegen zeigen sich erheblich stärkere Veränderungen in Abhängigkeit vom Alter als im Plasma (Abb.16). Sie liegen zwar immer noch unter den Werten, die auf Grund der Uricase-Entwicklung erwartet werden könnten, sind aber doch signifikant. Diese Ergebnisse bekräftigen die Annahme, daß hier die Niere kompensatorisch eingreift und die Harnsäureausscheidung in den ersten 4 Wochen ständig verringert, die Allantoinelimination dagegen entsprechend der vermehrten Bildung verstärkt. Da es eine

der Hauptaufgaben der Niere ist, die Homöostase des Blutes aufrechtzuerhalten, paßt sie die Elimination von Stoffwechselprodukten deren vermehrter oder verminderter Produktion an. Dafür stehen ihr die Möglichkeiten der tubulären Rückresorption und der tubulären Sekretion zur Verfügung. Beim Schwein beschränkt sich diese Eliminationsanpassung für Harnsäure auf die tubuläre Sekretion, da bei dieser Tierart kein Rückresorptionsmechanismus für Harnsäure vorhanden ist (HATFIELD et al., 1976; SIMMONDS et al., 1976) bzw. nach der Untersuchung von ROCH-RAMEL et al. (1980) nur in so geringem Ausmaß, daß ihm keine Bedeutung für die Harnsäurekonzentration im Harn zukommt. Die Niere scheint also unter physiologischen Bedingungen die geringe Uricase-Aktivität besonders der 1. Woche auszugleichen und ein Ansteigen der Harnsäure in für die Auskristallisation gefährliche Bereiche durch erhöhte Harnsäureausscheidung zu verhindern.

Die Hypothese, daß eine Hypoglykämie über Blockierung des salvage pathway zu einem Anstieg der Harnsäure im Blut führt, konnte durch unsere Versuche nicht bewiesen werden, da wir mit der von uns gewählten Methode (Phloricinbehandlung) kein Absinken des Blutglucosespiegels erreichen konnten. Ob die Ursache in einer Unansprechbarkeit der Schweine-niere für Phloricin oder in einer zu geringen Dosierung lag (obwohl die doppelte Dosis im Vergleich zu Literaturangaben angewendet wurde), oder die normal weitergeführte Milchkütterung die Phloricinwirkung wieder kompensierte, blieb ungeklärt.

Auch die Temperaturbelastung von 20°C, die zu heftigen Zittererscheinungen bei den betreffenden Ferkeln führte, hob den Harnsäurespiegel im Plasma nicht an. Deshalb wurden im Anschluß daran die Radioisotopen-Verdünnungsversuche durchgeführt. Auch bei diesen Versuchen zeigte sich bei den Harnsäure- und Hypoxanthinkonzentrationen im Plasma kein Unterschied zwischen Kontroll- und Hypothermiebehandlung. Jedoch

bei den Umsatzraten (Turnover) und den frei verfügbaren Pools, die beim Menschen bei purinfreier bzw. -armer Ernährung bei $1.74 \mu\text{mol/h} \cdot \text{kg KGW}$ bzw. $59.7 \mu\text{mol/kg KGW}$ liegen (LÖFFLER et al., 1982), beim Dalmatiner bei $11.35 \mu\text{mol/h} \cdot \text{kg KGW}$ bzw. $12.0 \mu\text{mol/kg KGW}$ (GAEBLER, 1981), zeigen sich unterschiedliche Ergebnisse: Der Harnsäure-Turnover erhöht sich bei Hypothermiebehandlung von $9.73 \pm 5.44 \mu\text{mol/h} \cdot \text{kg KGW}$ auf $15.63 \pm 5.09 \mu\text{mol/h} \cdot \text{kg KGW}$, der frei verfügbare Pool, der sich nicht nur aus dem intravasalen, sondern auch aus dem extravasal-extrazellulären Raum zusammensetzt, steigt von $2.66 \pm 2.71 \mu\text{mol/kg KGW}$ auf $10.40 \pm 9.04 \mu\text{mol/kg KGW}$. Der durch die Muskulararbeit erhöhte ATP-Umsatz führt also zu einer vermehrten intrazellulären Harnsäurebildung und im Anschluß daran zu einem erhöhten Austritt der Harnsäure in das Extrazellulärvolumen. Die Zunahme des Verteilungsraumes unter diesen Bedingungen, die sich aus der tiefer einsetzenden Kurve in Abb. 17 ergibt, wird durch einen erhöhten Harnsäure-Abfluß in die Harnblase bedingt. Bei Hypoxanthin fallen die Unterschiede nicht so deutlich aus, da das Hypoxanthin bevorzugt intrazellulär vorliegt und damit bei der Berechnung des Pools und Turnovers nicht berücksichtigt wird.

Die prozentuale Allantoinbildung, sowohl aus ^3H -Hypoxanthin als auch aus ^{14}C -Harnsäure, ist bei allen Versuchen bei Hypothermieferkeln im Vergleich zu Kontrolltieren deutlich erniedrigt. Da bei der Hypothermiebehandlung der Harnsäure-Pool zwar deutlich erhöht ist, die Harnsäurekonzentration im Plasma jedoch nicht mit ansteigt, wird auf dem Blutweg im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht entsprechend mehr Harnsäure zur Leber und damit zum Abbau durch die Uricase transportiert und die Allantoinbildung, bezogen auf die erhöhte Harnsäure- bzw. auch Hypoxanthinmenge, sinkt dadurch relativ ab.

Es deutet also alles darauf hin, daß nicht nur unter physiologischen Bedingungen die geringe Uricase-Aktivität der ersten Lebenstage durch die Niere kompensiert wird, sondern daß auch gewisse Belastungen des Purinendstoffwechsels, wie z.B. eine vermehrte Harnsäurebildung infolge erhöhten ATP-Umsatzes, abgefangen werden und so ein gefährliches Ansteigen der Harnsäure im Plasma und die Entstehung von Harnsäureinfarkten verhindert wird.

Aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen lassen sich folgende Schlußfolgerungen ziehen:

Die Ferkel besitzen in den ersten Lebenstagen eine im Vergleich zu adulten Schweinen äußerst geringe Uricase-Aktivität und die Entwicklung dieses Enzyms bis zu Aktivitätswerten erwachsener Tiere benötigt 4 Wochen.

Die Xanthin-Oxidase dagegen ist schon in der ersten Lebenswoche relativ stabil und ihre Entwicklung erscheint bereits nach 2 Wochen abgeschlossen.

Die Aktivität der Xanthin-Oxidase in der Leber beträgt nur einen geringen Teil der Uricase-Aktivität, da die Uricase auf die Leber beschränkt, die Xanthin-Oxidase jedoch in fast allen Geweben und Organen zu finden ist. Dieser Aktivitätsunterschied ist in der 4. Woche wesentlich größer (die Uricase-Aktivität beträgt das 14 fache der Xanthin-Oxidase-Aktivität) als in der 1. Woche (hier liegt der Uricase-Aktivitätswert nur beim 4 fachen im Vergleich zur Xanthin-Oxidase).

Die relativ geringe Uricase-Aktivität der ersten Lebenstage bedingt allein keinen Harnsäureanstieg im Plasma und ist nicht die primäre Ursache für die Auskristallisationen und für die tödlichen Harnsäureinfarkte in der Niere.

Der Glucosestoffwechsel erscheint bei Ferkeln in der ersten Lebenswoche schon relativ stabil. Eine Phloricinbehandlung, die bei anderen Tierarten eine deutliche Hypoglykämie hervorruft, zeigt beim Ferkel keine Wirkung.

Sind Ferkel in den ersten Lebenstagen einer hypothermischen Belastung ausgesetzt, so erhöht sich zwar der Harnsäurestoffwechsel (Pool und Turnover steigen signifikant an), jedoch kann dies kompensiert werden und die Harnsäurekonzentration im Plasma erhöht sich nicht.

Um eine Hyperuricämie auszulösen, muß die effiziente Harnsäureausscheidung in der Niere überfordert bzw. gestört sein. Eine Möglichkeit, die dafür in Betracht käme, wäre z.B. eine Infektion des Magen-Darm-Traktes, die mit starkem Durchfall einhergeht. Zum Einen würde dadurch die Nahrung so schnell wieder ausgeschieden, daß dem Körper nicht genug Zeit bliebe, wertvolle Nährstoffe zu resorbieren. Somit käme er in eine katabole Stoffwechsellage und wäre gezwungen, körpereigene Zellen abzubauen. Dies würde zu einem erhöhten Anfall von Purinabbauprodukten führen und zusätzlich den Purinstoffwechsel bzw. die Harnsäureausscheidung in der Niere belasten. Zum Anderen würde dem Körper über die Diarrhoe soviel Flüssigkeit entzogen, daß diese Dehydrierung auch eine Verminderung des Plasma- und Harnvolumens nach sich ziehen würde, was zu einer Konzentrierung der Inhaltsstoffe und damit auch der Harnsäure führen würde. Diese beiden Faktoren könnten also zu einem kritischen Harnsäureanstieg in Plasma und Harn und zu den tödlichen Niereninfarkten führen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurde versucht, genauere Erkenntnisse über den Purinendstoffwechsel des Ferkels in den ersten Lebenswochen und über die möglichen Ursachen der tödlichen Harnsaurereinfarkte in der Niere junger Saugferkel in den ersten Lebenstagen zu erhalten. Dazu wurden die Entwicklung der Leberenzyme Uricase und Xanthin-Oxidase und die Konzentrationsveränderungen der Purinabbauprodukte Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin in Plasma und Harn bei Ferkeln zwischen 2 und 28 Tagen verfolgt. Die Auswirkung hypothermischer Belastung auf den Purinstoffwechsel in den ersten 5 Lebenstagen wurde anhand von Blut- und Harnanalysen unter Einsatz von radioaktiv-markierter ^{14}C -Harnsäure und ^3H -Hypoxanthin untersucht.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die Aktivität der Uricase ist in der 1. Lebenswoche ($V_{\max} = 93.4 \text{ nmol/min} \cdot \text{g Leber}$) sehr gering, nimmt bis zur 4. Woche auf das 11 fache zu ($V_{\max} = 1030.9 \text{ nmol/min} \cdot \text{g Leber}$) und erreicht in dieser Woche den Wert adulter Schweine.
2. Die Xanthin-Oxidase benötigt nur 2 Wochen für ihre Entwicklung und ihre Aktivität steigt im Vergleich zur 1. Lebenswoche nur auf das 3 fache an ($V_{\max} = 24.9$ bzw. $74.5 \text{ nmol/min} \cdot \text{g Leber}$).
3. In der 1. Lebenswoche weist die Uricase nur die 4 fache Aktivität im Vergleich zur Xanthin-Oxidase in der Leber auf, ab 3-4 Wochen nach der Geburt das 14 fache.

4. Die Konzentrationen der Purinabbauprodukte Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin ändern sich in den ersten 4 Lebenswochen im Plasma nur gering; im Harn dagegen fällt der Harnsäurespiegel signifikant ab, die Allantoinkonzentration steigt entsprechend an.
5. Ein Herabsetzen der Umgebungstemperatur auf 20°C bewirkt eine Zunahme des Harnsäure- und Hypoxanthinstoffwechsels und einen Rückgang der Allantoinbildung im Vergleich zur Kontrolle. Ein Anstieg der Harnsäurekonzentration in Plasma und Harn ist unter dieser Bedingung nicht zu erreichen.

Diese Ergebnisse führen zu einem besseren Verständnis des Purinendstoffwechsels beim Ferkel in den ersten Lebenswochen. Sie bekräftigen auch die Hypothese über die Kausalität der Harnsäureinfarkte in der Niere junger Saugferkel, die jedoch durch weitergehende Untersuchungen noch bewiesen werden müssen.

S U M M A R Y

THE POSTNATAL DEVELOPMENT OF THE PURINE METABOLISM IN PIG

This work tries to explain the purine metabolism of piglets in the first weeks of life and the possible causes of the mortal uric acid infarcts in the kidney in the first days of life. The development of the enzymes uricase and xanthine oxidase in the liver was investigated, together with the change of hypoxanthine, xanthine, uric acid and allantoin concentrations in the plasma and urine of piglets aged 2 to 28 days. The effect of a hypothermic environment on the purine metabolism in the first 5 days of life was studied by means of blood and urine analyses with the use of radioactively labeled uric acid and hypoxanthine.

The following conclusions can be drawn:

1. The uricase activity in the first week of life is very low, but it increases up to the 4. week by a factor of 11 and reaches thereby the value of adult pigs.
2. The development of the enzyme xanthine oxidase requires only 2 weeks and its activity increases from the first to the third week only by a factor of 3.
3. In the first week of life the uricase activity is only the fourfold that of the xanthine oxidase in the liver, but by 3-4 weeks after birth it has increased to the 14-fold.
4. The concentrations of hypoxanthine, xanthine, uric acid and allantoin change in the first weeks of life in the plasma only slightly, while in the urine the concentration of uric acid falls significantly and the allantoin concentration increases correspondingly.

5. An environment of 20°C causes an enhancement of the uric acid and hypoxanthine metabolism and a decrease in the formation of allantoin in comparison to the control group. An increase of the uric acid concentration in plasma and urine did not take place under this condition.

These results lead to a better understanding the purine metabolism of piglets in the first weeks of life. The results also offer some support for the hypothesis concerning the causality of uric acid infarcts in the kidney of piglets; however, further investigations are necessary before they can be proven.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

AFZELIUS, B.A., 1965

The occurrence and structure of microbodies. A comparative study

J. Cell. Biol. 26, 835 - 843

ANTONENKOV, V.D., PANCHENKO, L.F., 1978

Organization of urate oxidase in peroxisomal nucleoids

FEBS Letters 88, 151 - 154

BALL, E.G., 1939

Xanthine oxidase: purification and properties

J. Biol. Chem. 128, 51 - 67

BAUDHUIN, P., BEAUFAY, H., DE DUVE, C., 1965

Combined biochemical and morphological study of particulate fractions from rat liver

J. Cell. Biol. 26, 219 - 243

BAUM, H., HÜBSCHER, G., MAHLER, H.R., 1956

Studies on uricase

II. The enzyme-substrate complex

Biochim. Biophys. Acta 22, 514 - 527

BERGMEYER, H.U., 1977

Grundlagen der enzymatischen Analyse

Verlag Chemie, Weinheim

- BIEBER, L.L., HELMRATH, T., DOLANSKI, E.A., OLGAARD, M.K., CHOI, Y.,
BELANGER, L.L., 1979
Gluconeogenesis in neonatal piglet liver
J. Ann. Sci. 49(1), 250 - 257
- BROWN, N.D., KINTZIOS, J.A., KOETITZ, S.E., 1979
Determination of hypoxanthine, xanthine and uric
acid in biological fluids by ion-pair high-perfor-
mance liquid chromatography
J. Chromatogr. 177, 170 - 173
- BRUDER, G., HEID, H.W., JARASCH, E.D., MATHER, I.H., 1983
Immunological identification and determination of
xanthine oxidase in cells and tissues
Diff. 23, 218 - 225
- BUDDECKE, E., 1980
Grundriss der Biochemie
6. Auflage
De Gruyter Verlag, Berlin
- BÜNGER, U., BÜNGER, B., STEINHARDT, M., LYHS, L., 1973
Zur Hypoglykämie der Saugferkel
Monatshefte f. Vet. Med., 28, 828 - 836
- CAMERON, J.S., SIMMONDS, H.A., HATFIELD, P.J., JONES, A.S.,
CADENHEAD, A., 1974
The pig as an animal model for purine metabolic
studies
Adv. Exp. Med. Biol. 41B, 691 - 692
- CLIFFORD, A.J., RIUMALLO, J.A., YOUNG, V.R., SCRIMSHAW, N.S.,
1976
Effect of oral purines on serum and urinary uric
acid of normal, hyperuricemic and gouty humans
J. Nutr. 106, 428 - 450

- CURTIS, S.E., CHRISTISON, G.I., ROBERTSON, W.D., 1970
Effects of acute cold exposure and age on
respiratory quotients in piglets
Proc. Soc. Exp. Med. 134, 188 - 191
- CURTIS, S.E., HEIDENREICH, C.J., HARRINGTON, R.B., 1967
Age dependant changes of thermostability in neonatal
pigs
Am. J. Vet. Res. 28, 1887 - 1890
- CURTIS, S.E., ROGLER, J.C., 1970
Thermoregulatory ontogeny in piglets: sympathetic
and adipokinetic responses to cold
Am. J. Physiol. 218(1), 149 - 152
- DAHME, E., WEISS, E., 1983
Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der
Haustiere
3. Auflage
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- DE DUVE, C., BAUDHUIN, P., 1966
Peroxisomes (microbodies and related particles)
Physiol. Rev. 46, 323 - 357
- DJURICKOVIC, S.M., GANDHI, D., BROWN, K., YOON, S., 1973
Urolithiasis in baby pigs
Vet. Med. Small. Anim. Clin. 68, 1151 - 1153
- D'MELLO, J.P.F., 1982
Utilization of dietary purines and pyrimidines by
non-ruminant animal
Proc. Nutr. Soc. 41, 301 - 308

FAREBROTHER, D.A., HATFIELD, P.J., SIMMONDS, H.A., CAMERON, J.S.,
JONES, A.S., CADENHEAD, A., 1974

Acute intratubular crystal deposition causing
permanent renal damage in the pig
Adv. Exper. Med. Biol. 41(2), 523 - 533

FENN, K., 1985

Über den Purinstoffwechsel der Leber des Schweines
Diss. Vet. Med., München

FLECKNELL, P.A., WOOTTON, R., JOHN, M., ROYSTON, J.P., 1981

Steady state glucose kinetics and their relation to
plasma glucose concentration in the premature and
full term neonatal pig
Can. J. Physiol. Pharmacol. 59, 1069 - 1072

FONTENELLE, L.J., HENDERSON, J.F., 1969

An enzymatic basis for inability of erythrocytes to
synthesize purine ribonucleotides de novo
Biochim. Biophys. Acta. 177, 175 - 176

FRIDOVICH, J., 1965

The competitive inhibition of uricase by oxonate and
by related derivatives of s-Triazines
J. Biol. Chem. 240, 2491 - 2494

GAEBLER, S., 1981

Untersuchungen über den Purinstoffwechsel des Dal-
matiner-Hundes bei erhöhter Aufnahme von Nuclein-
säuren
Diss. Vet. Med., München

GALLENMÜLLER, P., 1983

Zur Verträglichkeit von Procion bei Dalmatinern
und Beagle
Diss. Vet. Med., München

GIESECKE,D., 1985a

Species differences relevant to nutrition and metabolism research

Clin. Nutr. Met. Res., Proc. 7th Congr. ESPEN,
Munich, 311 - 328

GIESECKE,D., KRAFT,W., TIEMEYER,W., 1985b

Warum Dalmatiner Harnsäure ausscheiden.

Ursachen und Folgen einer klassischen Stoffwechselanomalie

Tierärztl. Prax. 13, 331 - 341

GIESECKE,D., TIEMEYER,W., 1984

Defect of uric acid uptake in dalmatian dog liver

Experientia, 40, 1415 - 1416

GRACE,V.H., MORILL,C.C., BUTZOW,R., HENDREN,P., SAMPSON,J.,
1951

Studies on baby pig mortality.

VI. Experimental uremia in young pigs

Am. J. Vet. Res. 12, 206 - 214

GREGER,R., LANG,F., PULS,F., DEETJEN,P., 1974

Urate interaction with plasma proteins and erythrocytes

Pflügers Arch. 352, 121 - 133

GRIEBSCH,A., KAISER,W., 1976

Einfluß exogener Purine auf den Harnsäurestoffwechsel

Handbuch der Inneren Medizin, Band 7, Teil 3: Gicht
6. Auflage

Springer Verlag, Berlin

GRIEBSCH,A., ZÖLLNER,N., 1973

Normalwerte der Plasmaharnsäure in Süddeutschland.
Vergleich mit Bestimmungen vor 10 Jahren
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 11, 346 - 356

GRÖBNER,W., ZÖLLNER,N., 1977

The influence of dietary purines and pyrimidines on
purine and pyrimidine biosynthesis in man
Nutr. Metab. 21, 26 - 32

HARKNESS,R.A., SIMMONDS,R.J., COADE,S.B., 1983

Purine transport and metabolism in man: the effect
of exercise on concentrations of purine bases,
nucleosides and nucleotides in plasma, urine, leuco-
cytes and erythrocytes
Clin. Sci. 64, 333 - 340

HARTWICK,R.A., BROWN,P.R., 1976

Evaluation of microparticle chemically bonded
reversed-phase packings in the high-pressure liquid
chromatography analysis of nucleosides and their
bases
J. Chromatogr. 126, 679 - 691

HASHIMOTO,S., 1974

A new spectrophotometric assay method of xanthine
oxidase in crude tissue homogenate
Anal. Biochem. 62, 426 - 435

HATFIELD,P.J., SIMMONDS,H.A., CAMERON,J.S., 1976

Uric acid transport in the pig kidney
Amino Acid Transp. Uric Acid Transp.,
Symp. Innsbruck, Meeting Date 1975, 156 - 163.
Edited by: Silbernagel,S., Lang,F., Greger,R.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

- HAYASHI, H., TAYA, K., SUGA, T., NIINOBLE, S., 1976
Studies on peroxisomes. VI. Relationship between the
peroxisomal core and urate oxidase
J. Biochem. 79, 1029 - 1034
- HELMRATH, T.A., BIEBER, L.L., 1974
Development of gluconeogenesis in neonatal pig liver
Am. J. Physiol. 227(6), 1306 - 1313
- HETENYI, G., NORWICH, K.H., 1974
Validity of the rates of production and utilization
of metabolites as determined by tracer methods in
intact animals
Federation Proc. 33, 1841 - 1848
- HO, C.Y., MILLER, K.V., SAVAIANO, D.A., CRANE, R.T., ERICSON,
K.A., CLIFFORD, A.J., 1979
Adsorption and metabolism of orally administered
purines in fed and fasted rats
J. Nutr. 109, 1377 - 1382
- HOFSTEE, B.H.J., 1959
Non-inverted versus inverted plots in enzyme
kinetics
Nature 184, 1296 - 1298
- HORNAWSKY, G., MÜLLER, H., 1980
Bestimmung von Allantoin im Serum und Harn land-
wirtschaftlicher Nutztiere
Arch. Exper. Vet. Med. 34(3), 333 - 337
- HRUBAN, Z., SWIFT, H., 1964
Uricase: localization in hepatic microbodies
Science 146, 1316 - 1318

KADISH, A.H., LITTLE, R.L., STERNBERG, J.C., 1968

A new rapid method for the determination of glucose
by measurement of rate of oxygen consumption
Clin. Chem. 14, 116

KARLSON, P., 1980

Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und
Naturwissenschaftler
11. Auflage
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

KATZ, J., ROSTAMI, H., DUNN, A., 1974

Evaluation of glucose turnover, body mass and
recycling with reversible and irreversible tracers
Biochem. J. 142, 161 - 170

KEILIN, J., 1959

The biological significance of uric acid and guanine
excretion
Biol. Rev. 34, 265 - 296

KELLEY, W.N., WEINER, I.M., 1978

Uric Acid
Handbuch der experimentellen Pharmakologie
Springer Verlag, Berlin

KLEMPERER, F.W., TRIMBLE, H.C., HASTINGS, A.B., 1938

The uricase of dogs, including the dalmatian
J. Biol. Chem. 125, 445 - 449

KRAHLING, J.B., GAUGER, J.A., TOLBERT, N.E., 1979

Postnatal development of peroxisomal and mitochondrial
enzymes in rat liver
J. Cell. Physiol. 101(3), 375 - 390

KRENITSKY, T.A., v. TUTTLE, J., CATTAU, E.L., WANG, P., 1974

A comparison of the distribution and electron acceptor specificities of xanthine oxidase and aldehyde oxidase

Comp. Biochem. Physiol. 49B, 687 - 703

KRSTULOVIC, A.M., BROWN, P.R., ROSIE, D.M., 1977

Identification of nucleosides and bases in serum and plasma samples by reverse-phase high performance liquid chromatography

Anal. Chem. 49(14), 2237 - 2241

LAGING, C., 1985

Elektronenmikroskopisch - morphometrische Untersuchungen der Entwicklung von Peroxisomen bei gesunden Ferkeln in den ersten 4 Lebenswochen

Diss. Vet. Med., München

LAJTHA, L.G., 1958

Pitfalls of specific radioactivity in measuring synthesis of desoxyribonucleic acid

Nature 181(2), 1609 - 1610

LANG, F., 1981

Renal handling of urate

In: Renal transport of organic substances

Hrsg.: GREGER, R., LANG, F., SILBERNAGEL, S.

Springer Verlag, Berlin, 234 - 261

LATA, G.F., MAMRAK, F., BLOCH, P., BAKER, B., 1977

An electron microscopic and enzymic study of rat liver peroxisomal nucleoid core and its association with urate oxidase

J. Supramol. Struct. 7(3-4), 419 - 434

LÖFFLER, W., GRÖBNER, W., MEDINA, R., ZÖLLNER, N., 1982

Influence of dietary purines on pool size, turnover,
and excretion of uric acid during balance conditions
Res. Exp. Med. 181, 113 - 123

LUKES, J., 1953

Three-day sickness of baby pigs
Am. J. Vet. Med. Ass. 123(916), 214 - 216

MADSON, L.L., EARLE, I.P., HEEMSTRA, L.C., MILLER, C.O., 1944

Acute uremia associated with "uric acid infarcts" in
the kidneys of baby pigs
Am. J. Vet. Res. 5(15), 262 - 273

MASTERS, C., HOLMES, R., 1977

Peroxisomes: new aspects of cell physiology and
biochemistry
Physiol. Rev. 57, 816 - 870

MAYRS, E.B., 1923

On the action of phloricin in the kidney
J. Physiol. London 57, 461 - 466

MENDEL, L.B., MITCHELL, P.H., 1907

Chemical studies on growth. II. The enzymes involved
in purine metabolism in the embryo
Am. J. Physiol. 20, 97 - 116

MERSMANN, H.J., 1971

Glycolytic and gluconeogenic enzyme levels in pre-
and postnatal pigs
Am. J. Physiol. 220, 1297 - 1302

- MERSMANN, H.J., GOODMAN, J., HOUK, J.M., ANDERSON, S., 1972
Studies on the biochemistry of mitochondria and cell
morphology in the neonatal swine hepatocyte
J. Cell. Biol. 53, 335 - 347
- MERSMANN, H.J., 1974
Metabolic patterns in the neonatal swine
J. Anim. Sci. 38(5), 1022 - 1030
- MERTZ, D.P., 1975
Zur Theorie über die Pathogenese der primären
Hyperurikämie
Med. Klin. 70, 1187 - 1198
- MURRAY, A.W., 1971
The biological significance of purine salvage
Ann. Rev. Biochem. 40, 811 - 826
- NEUNDORF, R., SEIDEL, H., 1977
Schweinekrankheiten
2. Auflage
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- NICHELMANN, M., BARNICK, H.G., LYHS, L., 1975
Untersuchungen zum Wärmehaushalt des neugeborenen
Ferkels. 1. Mitt.: Wärmeproduktion
Monatshefte f. Vet. Med. 30, 348 - 353
- NOGUCHI, T., TAKADA, Y., FUJIWARA, S., 1979
Degradation of uric acid to urea and glyoxylate in
peroxisomes
J. Biol. Chem. 254(12), 5272 - 5275

OHE, T., WATANABE, Y., 1981

Purification and properties of urate oxidase from
Streptomyces cyanogenus

J. Biochem. 89, 1769 - 1776

OROWAN, E., 1955

The origin of man

Nature 175, 683 - 684

PARKER, R.B., SIMMONDS, H.A., JONES, A.S., SNEDDEN, W., 1973

The use of high resolution mass spectrometry to
study purine metabolism in pigs

Biochem. Pharmacol. 22, 2869 - 2874

PITTS, O.M., PRIEST, D.G., 1973

Uricase reaction intermediate. Mechanism of borate
and hydroxide ion catalysis

Biochemistry 12(7), 1358 - 1363

PITTS, O.M., PRIEST, D.G., 1974

A steady-state kinetic investigation of the uricase
reaction mechanism

Arch. Biochem. Biophys. 163, 359 - 366

PITTS, O.M., PRIEST, D.G., FISH, W.W., 1974

Uricase. Subunit composition and resistance to
denaturants

Biochemistry 13(5), 888 - 892

PRAETORIUS, E., 1948

The enzymatic conversion of uric acid.

Spectrophotometric analysis

Biochim. Biophys. Acta. 2, 602 - 613

- ROCH-RAMEL, F., WHITE, F., VOWLES, L., SIMMONDS, H.A., CAMERON, J.S., 1980
Micropuncture study of tubular transport of urate and PAH in the pig kidney
Am. J. Physiol. 239, F 102 - 112
- SACHS, L., 1984
Angewandte Statistik
6. Auflage
Springer Verlag, Berlin
- SAVAIANO, D.A., HO, C.Y., CHU, V., CLIFFORD, A.J., 1980
Metabolism of orally and intravenously administered purines in rats
J. Nutr. 110, 1793 - 1804
- SCHREIBER, G., 1984
Purinmetabolite im Serum verschiedener Primaten
Diss. Vet. Med., München
- SCHWEDT, G., 1979
Chromatographische Trennmethode
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- SENFTLEBER, F.C., HALLINE, A.G., VEENING, H., DAYTON, D.A., 1976
Reversed-phase liquid chromatographic analysis of hemodialysate from uremic patients
Clin. Chem. 22(9), 1522 - 1525
- SIMMONDS, H.A., CADENHEAD, A., CAMERON, J.S., RISING, T.J., GRAHAME, R., DEAN, B.M., 1974
Thiopurinol and purine metabolism. Metabolic and radioisotope studies
Ann. Rheum. Dis. 33(6), 548 - 553

SIMMONDS, H.A., HATFIELD, P.J., CAMERON, J.S., CADENHEAD, A.,
1976

Uric acid excretion by the pig kidney

Am. J. Physiol. 230(6), 1654 - 1661

SIMMONDS, H.A., HATFIELD, P.J., CAMERON, J.S., JONES, A.S.,
CADENHEAD, A., 1973a

Metabolic studies of purine metabolism in the pig
during the oral administration of guanine and
allopurinol

Biochem. Pharmacol. 22, 2537 - 2551

SIMMONDS, H.A., RISING, T.Y., CADENHEAD, A., HATFIELD, P.J.,
JONES, A.S., CAMERON, J.S., 1973b

Radioisotope studies of purine metabolism during
administration of guanine and allopurinol in the pig

Biochem. Pharmacol. 22, 2553 - 2563

STANGASSINGER, M., 1986

Tracerkinetische Differenzierung und Quantifizierung
des metabolischen Glucoseflusses: eine Modellstudie
an Zwergziegen

Habilitationsschrift, München

TIEMEYER, W., GIESECKE, D., 1982

Quantitative determination of allantoin in biological
fluids by reversed-phase high-pressure liquid
chromatography

Anal. Biochem. 123, 11 - 13

TOLBERT, N.E., ESSNER, E., 1981

Microbodies: peroxisomes and glyoxisomes

J. Cell. Biol. 91(3), 171s - 183s

TRUSZKOWSKI, R., GOLDMANOWNA, C., 1933

Uricase and its action. VI. Distribution in various animals

Biochem. J. 27, 612 - 614

TSUKADA, H., MOCHIZUKI, Y., KONISHI, T., 1968

Morphogenesis and development of microbodies of hepatocytes of rats during pre- and postnatal growth

J. Cell. Biol. 37, 231 - 243

VIRCHOW, R., 1866a

Ueber Concretionen im Schweinefleisch, welche wahrscheinlich aus Guanin bestehen

Virchow's Arch. path. Anat. Physiol. 35, 358 - 359

VIRCHOW, R., 1866b

Die Guanin-Gicht der Schweine

Virchow's Arch. path. Anat. Physiol. 36, 147 - 148

WELLS, H.G., CORPER, H.J., 1909

Observations on uricolysis, with particular references to the pathogenesis of "uric acid infarcts" in the kidney of the new-born

J. Biol. Chem. 6, 321 - 339

WILKINSON, G.N., 1961

Statistical estimations in enzyme kinetics

Biochem. J. 80, 324 - 332

WINDSOR, R.S., 1977

Urolithiasis in piglets

Vet. Rec. 101, 367

ZAKARIA,M., BROWN,P.R., 1981

High-performance liquid column chromatography of
nucleotides, nucleosides and bases

J. Chromatogr. 226, 267 - 290

ZÖLLNER,N., 1976

Gicht

Handbuch der inneren Medizin, Bd.7, Teil 3

Springer Verlag, Berlin

ZÖLLNER,N., 1982

Purine and pyrimidine metabolism

Proc. Nutr. Soc. 41, 329 - 342

D A N K S A G U N G

Mein Dank gilt ganz besonders meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr.D.Giesecke für die Überlassung des Themas, für seine Anregungen und für die stets gewährte Hilfe.

Herrn Dr.W.Tiemeyer danke ich für die Einarbeitung und die Unterstützung bei der praktischen Ausführung; auch den Mitarbeitern des Labors Frau S. Wiesmayr, Frau G. Loibl und Frau S. Lutz sei herzlich gedankt für die kollegiale und nette Zusammenarbeit.

Für die Hilfsbereitschaft von Frau B. Amman und von meinem Kollegen N. Sandner bei der Durchführung meiner Versuche möchte ich mich ganz besonders bedanken.

Mein herzlicher Dank gilt auch Herrn Dr.habil. W. Erhardt für die Durchführung der Operationen.

Herrn Dipl.-Ing. A. Hierweger und Herrn Dr. D. Kohn danke ich für die Erstellung der Programme und für die Hilfe bei der computergestützten Auswertung.

Für die 2-jährige finanzielle Unterstützung meiner Arbeit durch ein Stipendium des Freistaates Bayern möchte ich hiermit auch meinen Dank aussprechen.

L E B E N S L A U F

Gabriele Maria Heiß : geb. am 06.06.1958 in München

Eltern : Toni Heiß, Architekt
Lydia Heiß, geb. Habegger

Schulausbildung : 1964 - 1968 Volksschule in
Bad Wiessee
1968 - 1977 Gymnasium Tegernsee

Abitur : 24.6.1977

Universittsaus-
bildung : 1977 - 1978 Studium der Infor-
matik an der TU - München
1978 - 1983 Studium der Tier-
medizin an der LMU - München

Approbation : 16.12.1983

Promotion : Jan.1984 - Nov.1986, am Institut
für Physiologie, Physiologische
Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Stipendium : des Freistaates Bayern
von März 1984 - Feb.1986

Berufstätigkeit : Mai 1986 - Aug.1986 wissen-
schaftliche Hilfskraft am Insti-
tut für Physiologie, Physiolo-
gische Chemie und Ernährungs-
physiologie der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

